

パラグアイ国シヤガス病等  
寄生虫症研究プロジェクト  
計画打合せ調査団報告書

平成元年 9 月

国際協力事業団  
医療協力部

医 協

J-R

89 - 42



パラグアイ国シヤガス病等  
寄生虫症研究プロジェクト  
計画打合せ調査団報告書

平成元年 9 月

国際協力事業団  
医療協力部



国際協力事業団

20771

## 序 文

パラグアイ国は、国家開発五ヶ年計画（1985～1989）を策定し、その中で保健医療分野における最優先課題として、同国民の20%余り（約60万人）が感染していると言われるシャガス病等寄生虫疾患対策を挙げている。

これにより、国立アスンシオン大学保健科学研究所(Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, 略称 I I C S) は、保健省の支援を受け、上記寄生虫症のコントロールに向けて、疫学的、免疫学的、生化学的、病理学的研究を開始した。その結果、フサオザルを用いてのシャガス病動物モデルの開発に成功し、有望な実験材料として期待されている。

かかる事情を背景に、パラグアイ国政府は、シャガス病、リーシュマニア症等寄生虫疾患に対する基礎的、応用的研究技術の移転を通じ、これら寄生虫症の診断、治療、予防技術の開発に寄与すべく、我が国に対し、プロジェクト方式技術協力を要請越してきたものである。

右要請を受け、国際協力事業団は、本件協力の妥当性の調査を目的に、昭和62年9月に事前調査団を、更に、前記調査の結果を踏まえ、技術協力プロジェクトを発足させるため、昭和63年2月に実施協議調査団を派遣し、パラグアイ国側関係諸機関との間で協力の詳細について協議を行い、本件実施に係る討議議事録（R/D）及び暫定実施計画（T S I）を締結・交換し、昭和63年3月4日から5ヶ年にわたる協力を開始した。

本件協力開始後、約1年半が経過し、プロジェクト実施計画の妥当性の検討を行うべく、またプロジェクトの進捗状況と問題点の把握、更には、今後の詳細な年次計画等を相手側と協議し、協力の適正化を図ることを目的とし、平成元年8月2日から8月14日まで、山形大学医学部仙道富士郎教授を団長とする計画打合せ調査団を現地に派遣した。

本報告書は、上記調査団が実施した調査及び協議内容とその結果等につき取り纏めたものである。

ここに、本調査にあたり、ご協力を賜った関係各位に対し、深甚なる謝意を表するとともに、今後とも本件協力事業の成功のために、更なるご支援をお願いする次第である。

平成元年9月

国際協力事業団

医療協力部長

近藤健文





COORDINATING COMMITTEE協議模様



計画打合せ調査団協議議事録（ミニッツ）署名（中央左  
Moreno所長，同右 Berganzaアスンシオン大学長）



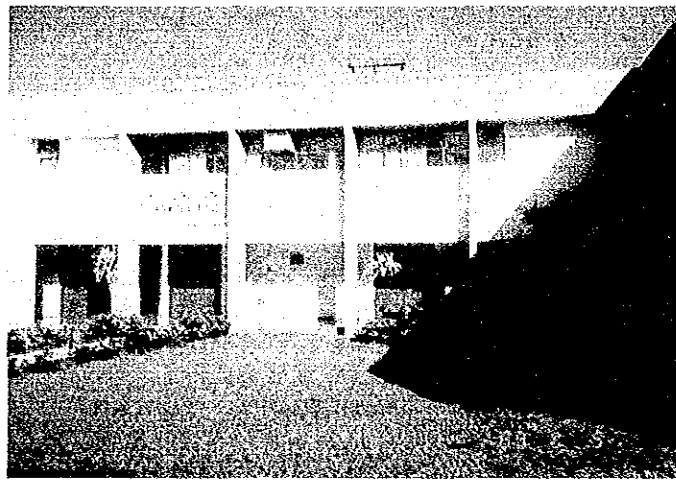
計画打合せ調査団協議議事録（ミニッツ）署名（左 川端  
リーダー，中央左 仙道団長）



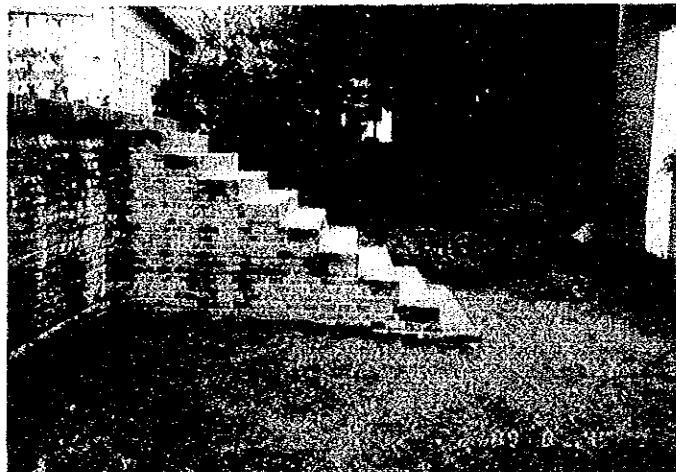




I I C S 新館前にて (左から Moreno 所長, 仙道 団長, 金子 団員, 多田 団員)



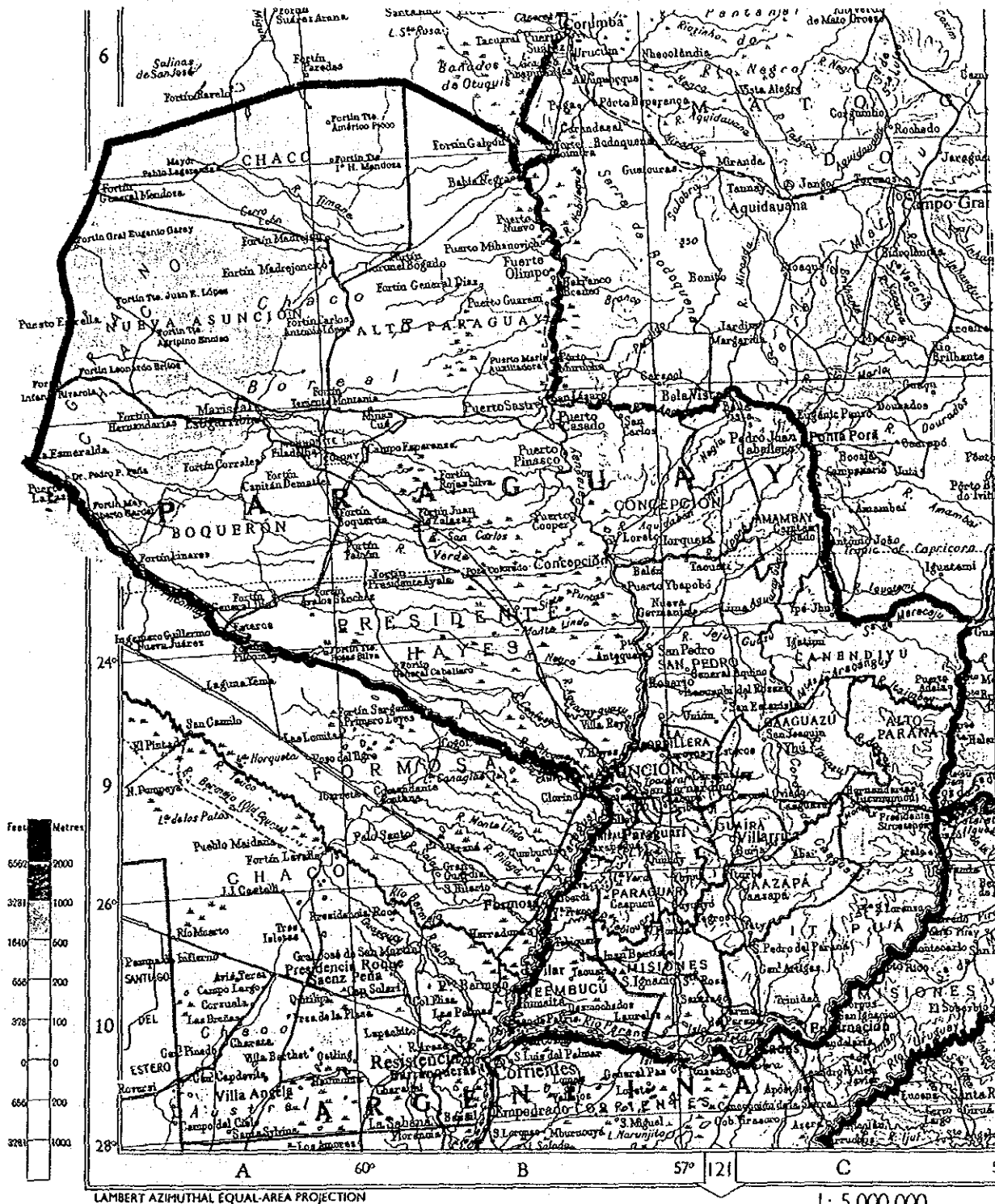
I I C S 新館 (2 階: プロジェクト専用研究室)



プロジェクト基盤整備事業 (I I C S 研究施設建設) 実施現場



パラグアイ共和国地図





# 目 次

1. 計画打合せ調査団派遣	1
1-1 調査団派遣の経緯と目的	1
1-2 調査内容	2
1-3 調査団の構成	2
1-4 日程表	3
1-5 主要面談者	4
2. 要 約	6
2-1 パラグアイ側プロジェクト実施体制	6
(1) 建物施設等整備状況	6
(2) I I C S組織改編とカウンターパートの配置	6
(3) 予算措置	8
2-2 技術協力計画の進捗状況	9
(1) プロジェクト基盤整備事業による実験・研究施設建設に係る作業状況	9
(2) 専門家派遣実績	9
(3) カウンターパート研修員受入れ実績	11
(4) 研究活動の現況	11
2-3 今後の技術協力実行計画	13
(1) 技術移転(研究)計画	13
(2) 日本側投入計画	13
3. 暫定実施計画の進捗状況	14
3-1 協力部門別活動	14
(1) 組織培養システム及び単クローン抗体産生系の確立	14
(2) 寄生虫学・疫学的研究	15
(3) サルを用いた動物モデルの樹立及びそれを用いたワクチン実験の試み	16
(4) 免疫学的研究	16
(5) 分子生物学的研究とその応用	17
(6) 臨床的病理学的研究	17
(7) その他感染症の研究	18
3-2 建物施設等	18
(1) プロジェクト基盤整備事業による実験・研究棟の建設について	18
3-3 専門家派遣	23
3-4 研修員受入れ	23

3-5	資機材供与及び利用・管理状況	24
(1)	資機材供与実績	24
(2)	昭和63年度供与機材の利用・管理状況	24
(3)	平成2年度供与機材	27
3-6	ローカルコスト負担事業	28
4.	暫定実施計画(TSI)及び詳細年次計画	29
4-1	暫定実施計画の解説	30
(1)	組織培養システム及び単クローン抗体産生系の確立	30
(2)	寄生虫学・疫学的研究	30
(3)	サルを用いた動物モデルの樹立及びそれを用いたワクチン実験の試み	31
(4)	免疫学的研究	31
(5)	分子生物学的研究とその応用	32
(6)	臨床的病理学的研究	32
4-2	詳細年次計画	33
5.	実施運営上の問題点	34
6.	調査団所見	37
6-1	結論と提言	37
6-2	総括	37
7.	合同委員会の協議結果	37
7-1	ミニッツ署名に至る経緯	37

#### 附属資料

- ① 協議議事録(ミニッツ)
- ② アスンシオン大学保健科学研究所(IICS)の組織図
- ③ 1989.8.8. IICSシャガス病等寄生虫症研究プロジェクト研究報告会抄録
- ④ 昭和63年度、平成元年度供与機材リスト

# 1. 計画打合せ調査団の派遣

## 1-1 調査団派遣の経緯と目的

パラグアイ共和国は、その地理的、気候的、動植物生態学的等の風土条件により、同国民の20%余りの60万人が感染していると言われるシャガス病等の寄生虫症が、同国の社会・経済発展の脅威となっており、1985年11月に同国大統領府企画技術省が策定した国家経済・社会開発5ヶ年計画（1985～1989）の保健医療分野においても、緊急に解決すべき最優先課題として位置付けている。

かかる事情を背景に、パラグアイ国政府は、シャガス病、リーシュマニア症等寄生虫症の診断技法の開発、治療法の改善・研究、更にワクチン等による予防技術の開発を目的として、1980年にパラグアイ国立アスンシオン大学に保健科学研究所（Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, I I C S）を設立し、上記寄生虫症のコントロールに向けて、疫学的、免疫学的、生化学的、病理学的研究を開始し、ことにフサオ猿を用いてのシャガス病動物モデルの開発に成功し、有望な実験材料として期待されているところ、これら熱帯性風土病に対する免疫学、病理学、生化学、分子生物学等の面で国際的に指導的立場にある我が国に対し、プロジェクト方式技術協力を要請越したものである。

右要請を受け、国際協力事業団は、本件協力の妥当性の調査を目的に、昭和62年9月に事前調査団、更に、前記調査の結果を踏まえ、技術協力プロジェクトを発足させるため、昭和63年2月に実施協議調査団を派遣し、右調査団とパラグアイ国政府機関代表者との間で同年3月4日に署名・交換された討議議事録（R/D）及び暫定実施計画（T S I）に基づき、シャガス病等寄生虫症研究に係る5ヶ年間の技術協力が実施される運びとなった。

プロジェクト開始から現在に至るまでに、既に長期専門家3名、短期専門家11名を派遣し、4名のカウンターパート研修員を受入れ、6,500万円余りの機材供与（昭和63年度分）を行っている。

本プロジェクトは、シャガス病、リーシュマニア症等寄生虫症の診断技術を開発し、治療法を追及し、他方新しい感染の予防を研究するプロジェクトで、かつシャガス病の病原体である *TRYPANOSOMA CRUZI* に対するワクチンの開発を最終目標としており、右目標達成のためには、遺伝子工学を基礎としたバイオテクノロジーの導入や放射性同位元素を用いた特殊技術を必要とすることからも、これらの実験・研究を円滑に実施するための基盤施設の早期整備は必須で、我が方プロジェクト基盤整備事業により上記施設の建設を行うことが急務となっている。

今回、計画打合せ調査団を派遣し、プロジェクトの進捗状況と実施上の課題等を調査し、先方実施機関関係者との協議を通じ、R/D及びT S I締結後の実施計画の妥当性を検討し、プロジェクト協力の適正化を図ることとした。

具体的には、以下2点の事項について調査し、協議することとした。

- 1) 協力分野の活動実績の調査及び評価とパラグアイ国側負担による研究施設の整備状況に基づき、プロジェクト全般についての今後の協力基本方針の確立を図る。
- 2) 本年度後半以降の長・短期専門家派遣、カウンターパート研修員受入れ、機材供与、ローカルコスト負担事業に係る協力計画を策定し、必要に応じR/D及びT S Iも修正変更する。

## 1-2 調査内容

### (1) パラグアイ側プロジェクト実施体制

- 1) 建物施設等整備状況
- 2) カウンターパート研究員、職員の配置（I I C S組織改編を含む）
- 3) 予算措置等

### (2) 技術協力計画の進捗状況

- 1) プロジェクト基盤整備事業による実験・研究施設建設に係る作業状況
- 2) 専門家派遣
- 3) カウンターパート研修員受入れ
- 4) 研究活動の現況

### (3) 今後の技術協力実行計画

- 1) 技術移転（研究）計画
- 2) 日本側投入計画（特に、プロジェクト基盤整備事業による実験・研究棟増築計画）

### (4) その他

## 1-3 調査団の構成

氏 名	担当業務	所 属 先
仙道 富士郎	総 括	山形大学医学部寄生虫学教室教授
多田 功	寄生虫学	熊本大学医学部寄生虫病学教室教授
金子 健 二	技術協力	国際協力事業団医療協力部医療協力課



1-4 調査日程

日順	月 日	曜日	行 程
1	8月2日	水	成田発 (19:00)RG831
2	3日	木	リオデジャネイロ着 (06:15) 同発 (09:15)RG902 アスンシオン着 (13:00) 16:00 JICAパラグアイ事務所表敬 調査日程、対処方針等について打合せ (細野所長、内田業務二課長、鹿野職員、山本所員)
3	4日	金	07:30 国立アスンシオン大学長 (Prof. Dr. Luis Berganza)及び保健科学研究所(IICS)長(Prof. Dr. Ricardo Moreno Azorero)表敬 08:00 国立アスンシオン大学医学部長 (Prof. Dr. Luis Alberto Reyes)表敬 10:00 在パラグアイ日本大使館表敬 (鹿野職員同伴) 中原二等書記官 (技協担当) とプロジェクト基盤整備事業等について打合せ 10:30 中曽根大使表敬 14:00 プロジェクト基盤整備事業実施に関し、現地施工業者よりヒアリング及び質疑応答 (技術水準の評価)
4	5日	土	09:00 団内打合せ (於: I I C S)
5	6日	日	資 料 整 理
6	7日	月	09:00 第一回全体会議 (於: I I C S) プロジェクトの進捗状況について 13:00 引き続き全体会議 (於: I I C S) 保健科学研究所の年次活動報告について 14:00 プロジェクト基盤整備事業実施に関し、現地施工業者と打合せ (設計図及び見積書作成依頼)
7	8日	火	09:00 第二回全体会議 (於: I I C S) 分野別研究報告会 13:00 引き続き全体会議 分野別研究報告会

日順	月 日	曜日	行 程
8	8月9日	水	09:00 第三回全体会議（於：I I C S） 平成2年度以降の研究活動計画について 14:00 プロジェクト基盤整備事業実施に関し、現地施工業者と打合せ（設計図検討） 19:30 パラグアイ側カウンターパートとの個別打合せ（於：内山田レストラン）
9	10日	木	10:00 COORDINATING COMMITTEE開催（アスンシオン大学長、保健科学研究所長、パラグアイ側主要カウンターパート、調査団、中原二等書記官、J I C A内田課長他） 11:30 ミニッツ締結（仙道団長、アスンシオン大学長、保健科学研究所長により署名） 15:00 プロジェクト基盤整備事業実施に関し、現地施工業者と最終打合せ（見積書徴収）
10	11日	金	08:00 J I C Aパラグアイ事務所へ帰国報告 （細野所長、内田業務二課長、鹿野職員） アスンシオン発（15:00）R G 903 リオデシャネイロ着（20:45） 同発（23:00）R G 860
11	12日	土	ニューヨーク着（07:30）
12	13日	日	ニューヨーク発（13:30）J L 005
13	14日	月	成田着（16:30）

1-5 主要面談者

（パラグアイ側）

国立アスンシオン大学

学 長

Dr. Luis Berganza

医学部長

Dr. Luis Alberto Reyes

アスンシオン大学保健科学研究所（I I C S）

所 長

Dr. Ricardo Moreno Azorero

Biología Molecular（分子生物学部門）

Dr. Antonio Figueredo

Informatica y Computación（情報・コンピュータ部門）

Dr. Estéban Ferro

Inmunología(免疫学部門)

Dra. Agueda Cabello

Dra. Margarita de Cabral

Dra. Marisel Maldonado

Dra. M. Elisa Vera

Dra. Margarita Samudio

Medicina Tropical(熱帯医学部門)

Dr. Jorge Rosner

Lic. Antonieta de Arias

Morfología (形態科学部門)

Dra. Elena Kasamatsu

Dra. Graciela Russomando

Dra. Miriam Morán

厚生省中央研究所 (LACIMET)

Laboratorio de Investigaciones (研究部門)

Dra. Diamante Ortiz de Silva

Dr. Julio Manzur

Hospital de Medicina Tropical(臨床部門)

Dr. Juan Maciel

(日本側)

日本大使館

在パラグアイ共和国日本国特命全権大使

中曾根 悟 郎

二等書記官

中 原 松 美

JICAパラグアイ事務所

所 長

細 野 秀 夫

総務課長

川 井 重 春

業務第二課長

内 田 智 允

同 課員

鹿 野 正 雄

所 員

山 本 謙 治

”

飯 原 善 太 郎

”

岸 恒 夫

## 2. 要 約

本調査団は、1989年8月3日から8月11日までの9日間、パラグアイ共和国首都アスンシオンに滞在し、パラグアイ国側関係者及び本プロジェクトに派遣されている日本人専門家と協議を行い、1章で記した計画打合せ調査事項に関する調査を行った。その調査結果および協議内容について概要を以下に示す。

### 2-1 パラグアイ側プロジェクト実施体制

#### (1) 建物施設等整備状況

- 1) 本プロジェクト実施に際し、パラグアイ側はアスンシオン大学保健科学研究所(I I C S) 中庭に200㎡2階建ての実験棟を建設、この内新館2階部分200㎡全てをプロジェクト用研究室として提供した。

なお、間仕切り、内部施設整備については、我が方昭和63年度応急対策費により実施した。

また、上記施設の他、I I C S本館2階のシャガス病研究室及び培養室も本プロジェクトへ提供された。(但し、専用でなく、他の使用者との共同利用)

- 2) プロジェクト開始当初より、本プロジェクト専用研究スペースは200㎡+ $\alpha$ といった極めて狭いものであった。本プロジェクトが最終目標と設定するワクチン開発に係る研究を進めていくには、分子生物学の導入が必要不可欠で、これに関わる実験室、放射性同位元素取扱室、さらに細胞培養室、臨床研究室といった施設を設置・拡充させなければならず、パラグアイ側は資金不足という問題にも直面していることから、上記実験・研究施設の増築に関し、我が方に強く要請してきている。
- 3) 上記実験・研究施設を我が方プロジェクト基盤整備事業で実施するにあたり、パラグアイ側はI I C S新館に隣接した中庭に約200㎡の土地確保に努め、1989年3月末、アスンシオン大学の最高決議機関である学部長会議は前述した中庭の200㎡の土地を本プロジェクトへ提供することを決定した。

#### (2) I I C S組織改編とカウンターパートの配置

本年2月に新所長が就任して以来、I I C Sの組織を強化しその機能の十分な発揮を図る目的で、部の統合再編成作業を計画、実施中である。I I C S側はG T Z (西ドイツ) プロジェクトの協力を得て、Water Pricehouse社に本研究所の組織に関するリサーチを依頼、既に総合報告書が提出され、これに沿って組織の再編成作業に着手している。

管理部門、医療サービス(臨床検査)部門、研究部門の三部門に分ける計画であるが、医療サービス部門と研究部門の分割、役割分担が明確でなく、現在検討中である。

また、大学長及び医学部の教授から構成される外部評議会が組織され、月1回会議が持たれ

ており、他方、I I C S の各部長により構成される内部評議会でも週に1回会議が開かれている。

I I C S 医療サービス及び研究部門のスタッフは下記の通りである。

なお、本件プロジェクト関連部門は⇒で示した。

#### I I C S Organización-Investigación y Servicio

Director	Dr. Ricardo Moreno Azorero
⇒Biología Molecular	Dr. Antonio Figueredo
Bioquímica Clínica	Dr. Miguel Angel Calabro
Informática y Computación	Dr. Estéban Ferro
⇒Inmunología	Dra. María I. de Calabro, Dra. Agueda Cabello, Dra. Margarita de Cabral, Dra. Rosana Galeano Dra. Rosa Zárate, Dra. Marisel Maldonado, Dra. M. Elisa Vera, Dra. Margarita Samudio
Medicina Asistencial	Dr. Juan Elizeche
Medicina Nuclear	Dr. Rubén Sosky
⇒Medicina Tropical	Dr. Jorge Rosner, Lic Antonieta de Arias, Lic. M. Elena Ferreira, Dra. Teresa Rovira Dra. Alicia Schinini
Microbiología	Dra. Dorita Medina
⇒Morfología	Dra. Elena Kasamatsu, Dra. Graciela Russomando, Dra. Myriam Moran, Dr. José Bellasai Dra. Marta Ascurra
Producción	Dra. Graciela Velázquez
Radioinmunoanálisis	Dra. Ursula Medina
Salud Pública	Dr. Cándido Nuñez

本研究所の運営管理面では、所長であるDr. Ricardo Moreno Azorero が所掌しているが、シヤガス病研究技術面では、Dr. Jorge Rosner の指導力は無視できず、本件プロジェクトに係るカウンターパートの組織化・配置を進めていくには、Dr. Jorge Rosner の本プロジェクトの参画が必須であろう。

- (2) 本件プロジェクト実施機関であるI I C S の勤務体制は、「フルタイム」勤務が午前8時から午後3時まで、「半日」勤務が午前8時から正午までとなっている。しかし、大半のプロジェクトカウンターパートが、「半日」勤務スタッフであることから、このようなカウンターパート勤務体制下で、研究活動が当初計画通り進捗するか否か懸念されていたが、長・短期専門

家による技術指導が刺激となり、本件研究に対するカウンターパートの姿勢は極めて積極的で、終日研究業務に熱意を傾ける者も増え、全般的に見て、研究活動は活発に展開されてきている。

(3) 予算措置

1) I I C Sの予算には、施設拡充費、資機材費及び実験動物飼育費等が全く計上されておらず、I I C Sの財政状態が逼迫していることを窺わせている。

しかし、平成元年2月の政変以降、I I C S予算は増額傾向にあり、1988年度と90年度では予算はほぼ倍増しており、研究員並びに職員の給与も大幅なベースアップが実施されている。

参考までに、1988年、89年（実績額）及び1990年（要求額）のI I C S予算は下記の通りである。

I I C S予算比較表（1988～1990）年

(年度)	<u>Ejercicio 1988</u>	<u>Ejercicio 1989</u>	<u>Ejercicio 1990</u>
人件費			
職員	122,788,800	219,603,200	245,454,800
アルバイト	19,111,200	37,156,800	34,812,000
雑費			
保守・修理	750,000	900,000	900,000
消耗品費			
リネン類	600,000	780,000	780,000
白衣仕立代	600,000	600,000	600,000
診断カード印刷	840,000	840,000	840,000
薬・試薬	6,000,000	8,100,000	7,500,000
その他	600,000	600,000	600,000
事務用品	1,000,000	1,000,000	1,000,000
機材費			
家具備品	1,000,000	1,200,000	1,200,000
実験器具	3,000,000	3,000,000	3,600,000
医療器具	3,000,000	3,000,000	3,000,000
合計（単位：Gケタニ）	<u>159,290,000</u>	<u>275,470,000</u>	<u>300,626,800</u>

2) 研究予算は、同研究所で開発された試薬販売や臨床医療活動（診療・検査）による自己収入で確保が図られるシステムとなっているが、臨床医療機器が未整備状態にあることや臨床医の数が少ないこともあり、その規模はまだ小さい。

IICS側は、今後、臨床面での医療活動を充実させていくことにより、自己収入即ち研究予算の拡大を図りたいと考えているようである。

## 2-2 技術協力計画の進捗状況

### (1) プロジェクト基盤整備事業による実験・研究施設建設に係る作業状況

- ① 2-1パラグアイ側プロジェクト実施体制(1)建物施設等整備状況で述べたように、本年3月末、先方実施機関であるアスンシオン大学よりシャガス病等寄生虫症研究プロジェクト用研究施設増築のため、約200㎡の土地提供を受けた。
- ② 日本側専門家チームは、シャガス病の病原体であるTRYPANOSOMA CRUZI に対するワクチン開発に係る研究遂行の為には、遺伝子工学を基礎としたバイオテクノロジーや放射性同位元素を用いた特殊技術の導入が必要と判断し、地上2階建、延床面積720㎡で細胞培養室、実験動物飼育室(SPFマウス)、臨床研究室、機材薬品管理室(以上1階)、分子生物学実験室、低温室(4℃以下)、暗室、放射性同位元素取扱室及び生化学実験室(以上2階)から成る実験棟建設をプロジェクト基盤整備費で申請するに至った。
- ③ パラグアイ側は資金不足という問題にも直面していることから、我が方によるモデルインフラ整備事業により本プロジェクト専用実験施設の整備・拡充と新技術の移転に強い要望と期待を寄せている。
- ④ 本プロジェクトの円滑な進捗を目指し、我が方プロジェクト基盤整備事業により本件施設整備を行うことと決定し、1990年3月末竣工を目標として施設建設が実施されることとなった。

### (2) 専門家派遣実績

長期派遣専門家

(平成元年10月31日現在)

年度	氏名	指導科目	派遣期間	所属先
63	川端真人	チームリーダー	昭和63年4月12日～ 平成2年4月11日	日本大学医学部講師
	近藤雅世	業務調整	昭和63年5月24日～ 平成2年5月23日	(財)国際協力サービスセンター 研修監理部
	渡邊正	寄生虫学	昭和63年10月21日～ 平成2年3月20日	山形大学医学部助手

短期派遣専門家

年度	氏名	指導科目	派遣期間	所属先
62	石原平八郎	水改善	昭和62年12月4日～ 同年12月23日	(株)日本鋼管 環境エンジニアリング本部
	吉井裕二	水改善	昭和62年12月4日～ 同年12月16日	(株)日本鋼管 応用技術研究所
	吉村健清	疫学	昭和62年12月11日～ 同年12月23日	産業医科大学教授
	小早川隆敏	協力計画	昭和63年1月29日～ 同年2月1日	JICA医療協力部 医療協力課課長
63	石原平八郎	水改善	昭和63年4月11日～ 同年4月25日	(株)日本鋼管 環境エンジニアリング本部
	山下隆夫	免疫学	昭和63年4月12日～ 同年6月19日	山形大学医学部助手
	澤田滋正	免疫学	昭和63年8月12日～ 同年8月23日	日本大学医学部助教授
	仙道富士郎	免疫学	昭和63年8月12日～ 同年9月11日	山形大学医学部教授
	太田伸生	寄生虫学	平成元年1月20日～ 同年3月19日	岡山大学医学部助教授
	野崎貞彦	免疫学	平成元年3月10日～ 同年3月22日	日本大学医学部教授
	河野均也	病理学	平成元年3月10日～ 同年3月22日	日本大学医学部教授
平成元年	橋口義久	寄生虫学	平成元年5月19日～ 同年9月18日	高知医科大学助教授
	西成田進	免疫学	平成元年6月1日～ 同年8月31日	日本大学医学部講師



年度	氏名	指導科目	派遣期間	所属先
平成 元年	沼田光弘	免疫学	平成元年6月1日～ 同年8月31日	厚生省 国立予防衛生研究所
	鈴木一志	病理学	平成元年8月2日～ 同年9月1日	山形大学医学部 病理学第一講座

(3) カウンターパート研修員受入れ実績

(平成元年10月31日現在)

年度	氏名	研修科目	受入れ期間	受入機関
63	Dr. Victor Villa Diaz	病理学	昭和63年7月24日～ 平成元年8月5日	日本大学医学部
	Dra. Margarita Samudio Acevedo	寄生虫学	昭和63年7月24日～ 平成元年8月2日	山形大学医学部 熊本大学医学部
平成 元年	Dr. Edgar Modesto Villagra Vera	分子生物学	平成元年6月20日～ 平成2年6月20日	順天堂大学医学部
	Lic. Antonieta de Arias	寄生虫学	平成元年9月4日～ 同年10月1日	熊本大学医学部
	Dra. María Elena Zorrilla	生化学	平成元年9月4日～ 平成2年9月4日	山形大学医学部

(4) 研究活動の現況

暫定実施計画(TSI)に基づき研究活動を遂行し、下記する結果を得た。

1. 組織培養システムの確立
2. トリパノソーマ・クルーヅィに対する単クローン抗体の作製
3. 新しい動物モデルの予備調査研究

なお、TSIに加えて、以下の追加研究計画を遂行した。

4. シャガス病患者における免疫遺伝学的研究

## 5. シャガス病患者の免疫学的機能における予備的研究

以下、詳細を示す。

### 1. 組織培養システムの確立

本プロジェクト専用研究室建設の遅れとクリーンベンチのような設備設営の遅れのため、組織培養室として、IICSの本館の2階のフロアを使用せざるを得なかった。高質の蒸留水を得るため、ミリQとミリROシステムを設置した。2~3ヶ月間、電力供給上の問題が相次いで起こったが、現在、このシステムは組織培養用としての高質蒸留水を供給するため十分に作動している。

### 2. トリパノソーマ・クルージィに対する単クローン抗体の作製

T. クルージィに対する単クローンをシャガス病患者の診断とT. クルージィワクチンの確立を最終目標に作製した。6つの単クローン抗体が、T. クルージィ感染マウスの脾臓細胞からハイブリドーマ法により得られた。得られた単クローン抗体の免疫学的反応は、ウェスタンブロット法で確認した。2つのクローン(Ig G 2b)はT. クルージィY-Strainの比較的低分子量のエピマスティゴート抗原と反応することがわかった。4つのクローン(Ig M)は、いろいろな分子量の抗原と反応した。これらの単クローン抗体のspecies, strain, stage に対する特異性は、現在調査中である。

### 3. 新しい動物モデルの予備調査研究

Cebus apellaをシャガス病の新しい動物モデルとして確立するための最初のステップとして、このサルの免疫学的特徴を調べた。IICSにおいて既に見い出されているCebus apellaのリンパ球が、Eロゼットを形成するという現象をさらに詳細に検討した。このサルのリンパ球によるEロゼット形成は、抗ヒトCD2単クローン抗体で完全に抑制された。(ヒトリンパ球ではEロゼット形成が抑制されない希釈度でも抑制された)この結果は明らかにCebus apellaのリンパ球は、抗ヒトCD2と反応する分子を使用しており、このサルのリンパ球とヒツジ赤血球とのbindingは、ヒトリンパ球とのbindingよりも低いことを示している。

### 4. シャガス病患者の免疫学的研究

日本住血吸虫症も含めてある種の感染症に対する感受性あるいは抵抗性は、HLA phenotype と相関するということがよく知られている。シャガス病の病因の調査手段として、心肥大型と巨大食道、大腸型のシャガス病患者のHLA phenotype を調査した。これら2つの型のシャガス病患者間のHLA-クラスIとクラスIIのphenotype を比べたところ、ある種の違いがみられた。特に、HLA-Cw3 phenotype が心肥大型の患者で有意に高い頻度でみられた。このことより、HLA-Cw3によってコードされている分子が心肥大型シャガス病の病因に含まれるかもしれないと考えられる。

## 5. シャガス病患者の免疫学的機能における予備的研究

シャガス病の感染防御および病因において、Tリンパ球が重要な役割を果たしていることが知られている。患者のT細胞活性を調べ、患者リンパ球から抗原特異的T細胞クローンを得るため、T. クルージィ抗原に対するT細胞胞胚形成を患者リンパ球を用いて調査した。幾人かのシャガス病患者のリンパ球は、エピマスティゴート抗原とin vitroで反応して、増殖した。一方、健康人のリンパ球では増殖しなかった。このことは、患者のTリンパ球は、T. クルージィ抗原に感作されていることを示している。この結果は、顕微鏡による観察の下で得られたものである。より洗練された方法によるさらなる研究が必要であろう。

## 2-3 今後の技術協力実行計画

### (1) 技術移転(研究)計画

- |                           |               |
|---------------------------|---------------|
| ① 組織培養システム及び単クローン抗体産生系の確立 | 1988年～1989年   |
| ② 寄生虫学・疫学的研究              | 1989年～1992年   |
| ③ サルを用いた動物モデルの樹立          | 1989年後半～1992年 |
| -1. モデル研究                 | 1989年後半～1990年 |
| -2. ワクチン開発                | 1991年～1992年   |
| ④ 免疫学的研究                  | 1988年～1992年   |
| ⑤ 分子生物学的研究とその応用           | 1990年～1992年   |
| ⑥ 臨床的病理学的研究               | 1990年～1992年   |
| ⑦ その他感染症(リーシュマニア症等)の研究    | 1989年～1992年   |

### (2) 日本側投入計画

- ① 専門家派遣(長・短期専門家)  
継続的に専門家派遣を実施し、研究活動の停滞を避ける。
- ② カウンターパート研修員受入れ  
来年度受入れ研修員(早期通報分:3名)の人選を進めるとともに、希望研修内容についても詳細に調査し、国内受入機関を早期に確定する。
- ③ 機材供与  
来年度供与希望機材をパラグアイ側カウンターパートより聴取する。
- ④ ローカルコスト負担事業  
前述した通り、我が方プロジェクト基盤整備事業により、分子生物学実験室、細胞培養室、実験動物実験室(SPFマウス)等よりなる実験・研究棟を増築し、早期に基盤整備を図る。

### 3. 暫定実施計画の進捗状況

#### 3-1 協力部門別活動

##### (1) 組織培養システム及び単クローン抗体産生系の確立

1988年3月、応急対策費により、超純水製造装置 (Millipore)の据付及び付帯工事を行い、1988年4月には山下、石原両専門家の努力により組織培養、特に単クローン抗体の樹立のために要求される純度の純水を得ることに成功した。この純水を用いた単クローン抗体作製の予備実験については、山下専門家のカウンターパートであるDr. Edgar Modesto Villagraによって学会報告されている。プロジェクト開始当時、実験機器が未整備であったこともあり、T. cruzi に対する単クローン抗体の樹立は遅延傾向にあったが、渡辺専門家のELISAを肉眼的に判定するという工夫により、T. cruzi 感染マウス脾細胞より大別して2種類の単クローン抗体の樹立に成功した。また、昭和63年度カウンターパート研修員の1人であるDra. Margarita Samudio Acevedo が山形大学医学部寄生虫学講座にて研修中に、斉藤奨助教授の指導のもとにT. cruzi 抗原免疫マウス脾細胞によりWestern blottingで単一バンドを示す抗原と反応する単クローン抗体を得ている。

以上、本協力部門の進行はほぼ予定通りであるが、以下に今後の課題を示す。

A)超純水製造装置の保守について：山下、石原両専門家により設置された同装置も、専門家帰国後、パラグアイ側カウンターパートが単独でフィルター交換をおこなったため（この点の技術移転が結果的に十分でなかったということか）、渡辺専門家赴任時には十分に作動していない状態であった。渡辺専門家の適切な処置により現在ではフル回転しており、また、保守作業に係る注意事項は、Dr. Villagra により西語に訳され、同装置に貼り付けてあるので問題はないように思うが、渡辺専門家の任期満了前に保守・維持管理に関する完全な技術移転を終える必要がある。つまり(1)IICSのカウンターパートだけでフィルターの交換などの保守作業を実際に行わせてみることに、(2)保守に係る責任体制を完全にしておくことが必要である。また、フィルターなど保守に必要な消耗品を十分に確保し、プロジェクト終了後も長期間、本装置が稼働することを保証しておくことが肝要である。

B)渡辺専門家帰国後の単クローン抗体生産体制について：渡辺専門家の話によるとIICSのカウンターパートだけで単クローン抗体を樹立するのは困難であるという。技術的には、Dra. Samudio, Dra. Rasa Zárate、（おそらくは1年後にはDr. Villagraも）などが既に修得しており問題はない。重要なポイントはIICSを含めたラテン・アメリカの勤務体制にあり、この問題の可能な解決方法については他の部門別活動と関連があり、一括して「調査団所見」で触れることにする。

## (2) 寄生虫学・疫学的研究

暫定実施計画によると、寄生虫学部門とは寄生虫学及び疫学的研究として項目2に挙げられた領域を意味するが、ここでは寄生虫そのものを扱う必要のある活動を広く指すこととして総括する。したがって、TSIによる分類では項目の1, 2, 3, 7, が関連すると考えられる。

### (2)-1 トリパノソーマの培養

山下専門家、Dra. Graciela Russomando らにより、現在、ビトロで *T. cruzi* が培養され、必要なトリポマスチゴートが得られるようになっている。今後は一層純粋なトリポ型を大量に得る操作をルチン化していくことが必要である。

### (2)-2 サル *Cebus apella* における *T. cruzi* 感染モデル

Dr. Rosner がこれまでに同サルに *T. cruzi* を感染させ、心臓型シャガス病を確立する努力を続け、その結果は、Trop. Med. Parasit. 39(1988), 51-55及び同誌40(1989), 23-31に報告されている。感染サルについての免疫病理学的研究には、ある種のフィラリア感染が認められることなどで問題はあるものの、今後この方向を延長し、ワクチン評価の対象としても利用していかなければならない。したがって、①サル飼育施設の完備(給水)、②サル繁殖コロニーの設立などが今後の方向として重要である。①は現在のサル飼育場が不完全で水の供給に問題があることであり、②はアスンシオンから10kmの近郊に土地を確保してサルの飼育・繁殖を図るものである。このプランについてはDr. Rosner から説明があり、自然界でのサルの減少とあいまって緊急の要望として全員に受け入れられた。

### (2)-3 リーシュマニア症の伝播に関する研究

リーシュマニアは血液・組織寄生鞭毛虫として *T. cruzi* とは極めて近縁の種である。したがって、本原虫についての研究はトリパノソーマに活用できるものである。更に、リーシュマニア症はラテンアメリカ全般で非常に重要な疾病である。これらを考慮すれば、このプロジェクトで本症を重視することの重要性は疑いの無いところであろう。

この部門へは、橋口専門家(短期:1989年5月19日~同年9月18日)が派遣され、IICS側のC/PとしてはLic. Antonieta de Ariasとアルバ・インチャウスティ、Dra. María Elena Zorrillaらが配置されている。他にLACIMETとの間に個人レベルでの協力関係が成り立って、衛生昆虫を対象とするプロジェクトが立案され実施に移されており、両研究機関の研究員の人間関係は良好である。

現在、得られている知見としては、パラグアイ国南東部の本症流行地でサシチョウバエ5種(Lu. shannoni, Lu. intermedia, Lu. whitmani, Lu. fisheri, Lu. cortetezzi)を採集し、原虫分離を試みたが、未だリーシュマニアは発見されていない。この仕事は目下、続行中であり、経過を見守る必要がある。

問題点としてはLACIMETとの間の正式な研究協力、あるいは分野分担などの取り決めが無いことである。このため、Dr. Moreno 所長が指摘したようにIICSとLACIMETと

の間で公式な協定の締結が必要であろう。公的協定を作って、お互いに力を貸した方が円滑に効率的に成果を挙げられるであろう。

### (3) サルを用いた動物モデルの樹立及びそれを用いたワクチン実験の試み

*Cebus apella*を用いたシャガス病のモデルはDr. Rosner により樹立されていると見ていいが、野性サルであるため、寄生虫疾患も含めた種々の感染症に罹患しており、ワクチンによる予防効果、免疫能の変化の判定に影響する可能性があることを考慮しておく必要がある。ワクチン実験のための基礎実験としてDr. Rosner の要請により、渡辺専門家が*Cebus apella*のリンパ球機能の検索を開始している。

問題点としては、A)Dr. Rosner がこの協力部門を掌握しており、このプロジェクト開始以来、彼との真のコミュニケーションを確立するに至っておらず、技術移転が十分に行われていない。B) Aとの関連でワクチン実験開始にいたるプロトコルの作成がなされていない。

よって、早期に、この協力部門の円滑な運営への道を探らなければならない。

### (4) 免疫学的研究

渡辺専門家（長期）、太田、西成田、沼田専門家（短期）らの技術移転が成功裡に行われつつあり、ほぼ計画通りに進行していると考えられる。

太田専門家とC/PのDra. Marta Ascurra は、シャガス病の発症機構を探る一つのアプローチとして、シャガス病患者のHLAタイピングを行い、予備的結果として、心臓型シャガス症患者に有意にHLA-Cw3が多いという興味ある結果を得ている。また、患者末血リンパ球を *T. cruzi* 抗原で刺激することにより芽球化が一定の患者リンパ球で起こることを肉眼的観察を通してではあるが確認している。問題は、太田専門家の帰国後、HLA関係の研究は進捗していないという点である。その理由については、今回の短い調査期間では確定し得なかったが、短期専門家による移転技術をいかに持続・発展させるかに関する問題の一つを提示しているごとくである。

西成田専門家とC/PのDra. Marisel Maldonado は、*T. Cruzi* の感染機構を探るための基礎的実験と共に将来の臨床への応用を目指して、シャガス病患者血清中のフィブロネクチン量を定量する仕事に着手した。現在、フィブロネクチンの精製、抗フィブロネクチン血清の作製が進行中である。西成田専門家が帰国後、Dra. Maldonado 主導型で研究が進められることになるが、それが一定の方向性を持ち得るか否かは、Dra. Maldonado がIICSなかで最も優秀な研究者の一人であるだけに、技術移転のテストケースになると考えられ、今後注目していきたい。

西成田専門家はさらにC/PのDra. Agueda Cabelloとともにシャガス病患者の免疫学的病態を知る一つのアプローチとして患者血清中のリウマチ因子の解析に着手し、一部の患者血清中にIgG, IgM, IgE型リウマチ因子の存在を確認し、シャガス病の自己免疫疾患としての一面を示唆している。西成田専門家から提起された問題点としては、シャガス病患者の臨床免疫学的研究あるいは臨床疫学的研究を行う際に遭遇した大きな問題点は、1)診断の確実性、

背景因子の確定などが保証されていないこと、2)患者のほぼ全員は一回(初診)しか受診せず、経過観察が不可能であることなどである。これらの点の可能な解決方法については後述する。

沼田専門家とパラグアイ側C/PであるDr. Antonio Figueredo, Dra. Russomando 及びDr. Figueredo を通じ研究に参加している学生は、T. cruzi(トリボマスチゴート型)に対する細胞障害性T細胞の検索を行い、まだ確認しなければならないいくつかの問題点は残しているが、その存在の可能性を示した。本調査団帰国後、文献検索した限りでは、T. cruzi に対する細胞障害性T細胞の存在は報告されておらず、今後どのような発展を遂げるか極めて興味深い。というのは、ワクチン開発のための抗原精製の際に、上記の細胞障害性T細胞の誘導性の有無が指標の一つになる可能性が大きいことと免疫学的研究としての先駆性をこの研究が持ちあわせていると考えられるからである。

渡辺専門家はC/PのDra. M. Elisa VeraとともにT. cruzi 感染マウスの腹腔浸出細胞の免疫調節物質であるTNF産生能を検索した。その結果、まだ予備的な段階ではあるが、感染マウスの腹腔マクロファージが、非感染対照群のそれに比し高いTNF産生能を示した。また、シヤガス病患者単球のTNF産生能についても検討を開始している。Dra. Margarita de Cabral は単独でT. cruzi 感染マウスの抗体産生能についての検討を開始した。

Dra. Cabello とDra. Cabralは、仙道専門家の指導のもとに、Cebus apella末梢血リンパ球の羊赤血球に対するロゼット形成が抗ヒトCD2単クローン抗体により阻止され、ヒトリンパ球のロゼット形成を阻止するよりも低い濃度の抗CD2によりCebus apellaのロゼット形成が抑制されることより、Cebus apellaリンパ球とSRBCの結合力は、ヒトリンパ球のそれよりも弱いことを解明した。

以上、免疫学部門の技術転移は概ね良好であるといえるが、問題は、8月末に渡辺専門家を除く全専門家が帰国したあとに、C/P単独でどこまで現在の仕事を発展することができるかにかかっている。

#### (5) 分子生物学的研究とその応用

T S Iでは1990年度からの協力になっており、現在はその準備段階にある。Dr. Figueredoが米国で4年間の経験があり、Dr. Maldonadoが本邦理科学研究所での集団コース(1年間)を修了してパラグアイに帰国しており、現在、Dr. Villagra が順天堂大学で遺伝子工学を研修中である。さらにプロジェクト基盤整備費により分子生物学のラボの建設が1989年度中に完了する予定である。

#### (6) 臨床的病理学的研究

鈴木専門家により、光学顕微鏡標本作製システムの設置はほぼ終了した。問題点としては頻発する停電に対応する処置をどうするか(現在バッテリー方式などを鈴木専門家が検討中)とアルコールの問題である。現在、パラグアイでは標本作製過程での脱水にアセトンを使用しているが、細胞の収縮がおこり、細胞間に人工産物の隙間が生ずる。アルコールを使用しない理

由としては、パラグアイ製アルコールは質が悪く、メルク社製アルコールは高価で使用できないということである。協力終了後のことを考慮すると、アルコール蒸留装置を設置することが望ましい。

#### (7) その他感染症の研究

リーシュマニア症の研究を中心に、(2)寄生虫学・疫学的研究の項に詳細に述べられている。

### 3-2 建物施設等

アスンシオン大学保健科学研究所 (I I C S) の現有研究施設については、次ページの図面を参照願いたい。

#### 1) プロジェクト基盤整備事業による実験・研究棟の建設について

本件は、5ヶ年の協力期間の前半では、実験室の整備、単クローン抗体の作製、フサオザルを用いた動物モデルの樹立、後半では、パラグアイ産 *T. cruzi* 株の生化学的特性、防御免疫機構の解明とその応用、病変成立機序が主要なテーマで、I I C S の研究・実験室の設立と運営を目標とし、かつシャガス病の病原体である *Trypanosoma cruzi* に対するワクチン開発を最終目標とする免疫学、臨床疫学、病理学、寄生虫学、昆虫学といった分野における研究プロジェクトである。

プロジェクトサイトである I I C S の建物施設に関して、昭和62年9月の事前調査時に、本件実施、特に免疫学、分子生物学的研究を進めるために、大型実験機器の導入が必須で、既存の建物内にその場所を得ることは極めて困難で、プロジェクトを集約的に行なうことのできる場所の確保が急務であることが指摘されていた。

プロジェクト開始以来、本プロジェクト実施のために提供された実験スペースは明らかに手狭であることが双方により確認済みで、プロジェクト後半の実験・研究活動を促進させるには実験スペースの拡張、即ちシャガス病実験・研究棟増築が急務とされてきている。

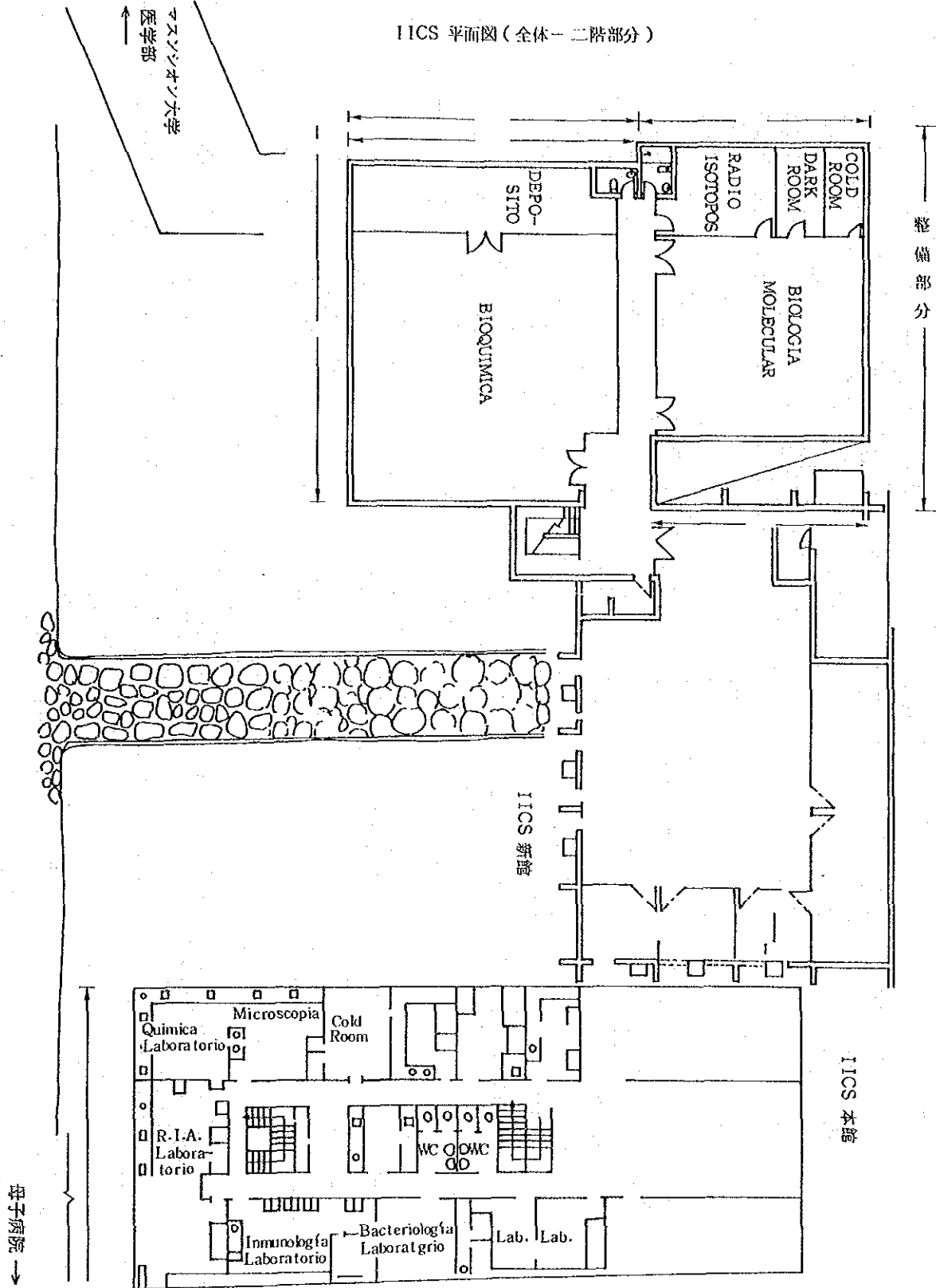
パラグアイ側は、本件実施を通じての新技术修得、研究員の技術水準向上に積極的であるが、資金不足という問題にも直面していることから、円滑なプロジェクト実施に不可欠なインフラ整備に関し、我が方に強く要請越した。

前述の通り、本件はシャガス病、リーシュマニア症等寄生虫症の診断技術を開発し、治療法を追及し、他方新しい感染の予防を研究するプロジェクトで、かつシャガス病の病原体である *Trypanosoma cruzi* に対するワクチン開発を最終目標に設定している。

我が方は、右目標達成のためには、遺伝子工学を基礎としたバイオテクノロジーの導入や放射性同位元素を用いた特殊技術を必要とし、これら新技术を導入しての実験・研究を展開していくための基盤施設、例えば、分子生物学実験室、細胞培養室、臨床研究室、放射性同位元素取扱室の設営は必要不可欠で、緊急性が高いと判断し、プロジェクト基盤整備事業（モデルライフ整備）として、別紙工事内容で本件専用実験・研究棟の増築を実施することとした。



IICS 平面図 (全体 - 二階部分)

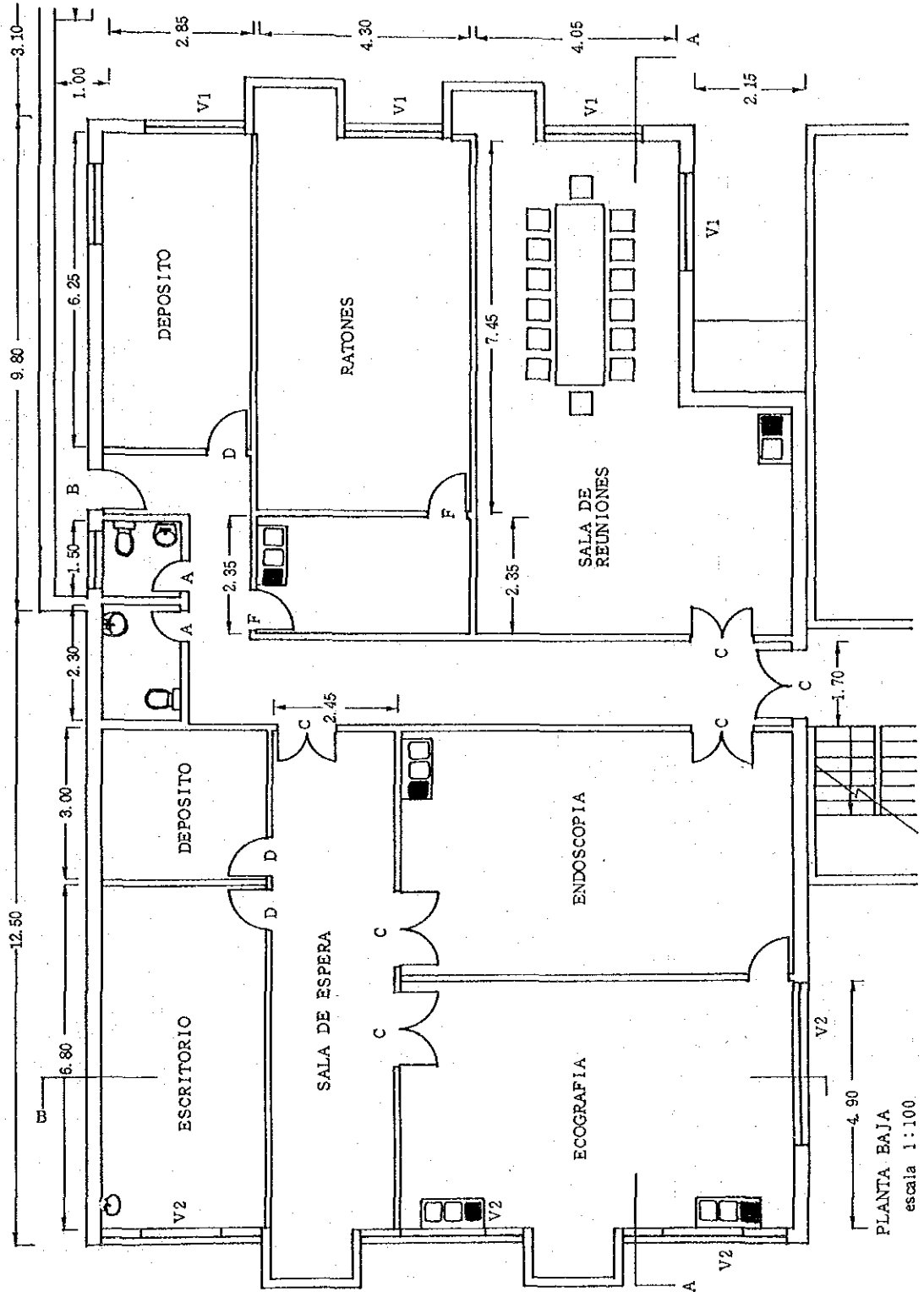


2) 実験・研究棟建設工事内容について

工 事 内 容	
(1) 施設の概要	
① 建設場所	国立アスンシオン大学保健科学研究所内
② 建 物	地上2階、延床面積720.00M <sup>2</sup>
③ 施 設	1階：細胞培養室、実験動物飼育室(SPFマウス) 臨床研究室、機材薬品管理室 2階：分子生物学実験室、低温室、暗室、放射性 同位元素取扱室、生化学実験室
④ 基 礎	現場打コンクリート基礎
⑤ 主体構造	柱、梁鉄筋コンクリート構造、外壁レンガ 造の構造
(2) 工 期	1989年9月～1990年3月末日(約7ヶ月)

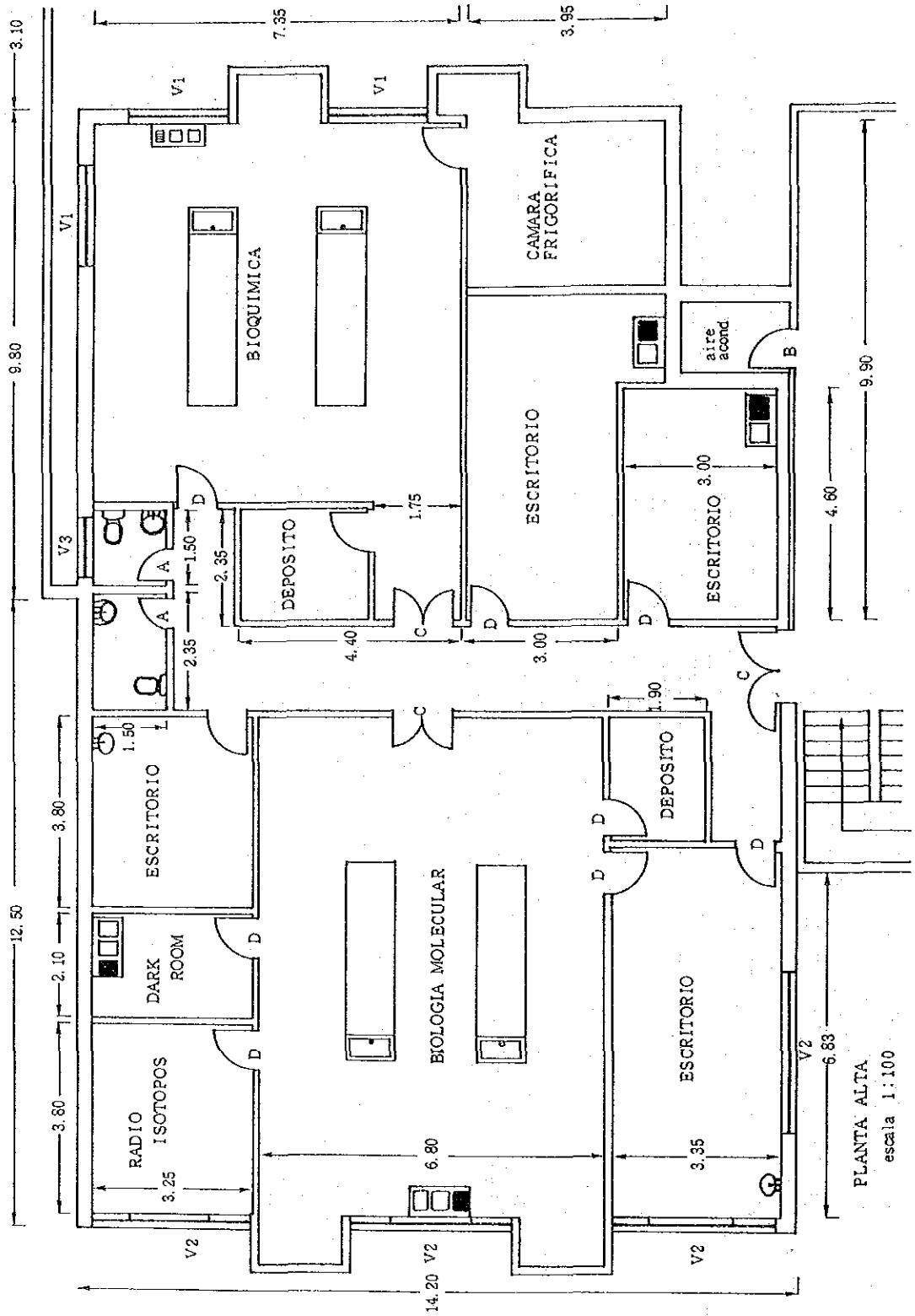
パラグアイ国シャガス病等  
寄生虫研究プロジェクト  
実験・研究棟 (1階)

Obra : Proyecto de Mal de Chagas-JICA-IICS  
Infraestructura Modelo



パラグアイ国シャガ病等 実験・研究棟 (2階)  
 寄生虫研究プロジェクト

Obra : Proyecto de Mal de Chagas - JICA - IICS  
 Infraestructura Modelo



### 3-3 専門家派遣

超純水製造装置設営のため山下、石原両専門家の派遣については先に述べたので省略する。

当初1988年10月に、長期専門家2名(寄生虫学、免疫学)、短期専門家4名(免疫学3名、病理学1名)の派遣を予定していた。しかし、1988年度供与機材の選定、仕様検討に長期間を費したため、とりあえず渡辺専門家を長期専門家として派遣し、続いて1989年1月より2ヵ月間太田専門家を派遣した。昭和63年度供与機材がプロジェクトサイトに到着し、機材検収を終了した時点、即ち1989年6月より3ヵ月間、免疫学を指導科目とし西成田、沼田両専門家を派遣した。また、橋口専門家が5月中旬から4ヵ月間、リーシュマニア症の疫学調査を主なテーマとして派遣されたが、協力部門(7)の導入口として十分な役割を果たしたと考えられる。鈴木専門家は指導科目との関係上、機材搬入・検収を確認の上、8月上旬より1ヵ月間滞在し、機器の設置、光学顕微鏡薄切標本作製を行い、技術指導の所期の目的を達成し、帰国した。

各専門家は十分に技術移転を成し得たと評価するものである。しかし、川端チームリーダー、橋口専門家などを除いた各専門家とIICS側C/Pとの言葉の壁は大きく、思わぬ誤解などがあったのではないかと危惧するものである。単に、本プロジェクトのみならず、専門家の語学能力の向上は今後の技術協力の大きな課題となろう。

(付記) IICS側C/Pにより、派遣専門家の詳細な専門分野とIICSでの研究テーマを事前に知らせておいて欲しいとの要望が何度か提出されており、当然のことであり、今後要望に応える必要がある。

### 3-4 研修員受入れ

Dra. Margarita Samudio, Dr. Victor Villa Diaz はそれぞれ免疫学、病理学に係る1年間の研修を修了し、IICSに本年7月に戻った。Dr. Samudioに関しては、技術修得はもちろんのこと、この1年間に自ら研究に向かっていくためのautonomyを獲得したごとくであり、将来、IICSにおける指導者の一人として期待される。Dr. Villaに関しては、真面目に1年間研修したという指導教官の間接的な報告を受けている。ただ、臨床病理学の研修には少なくとも6~7年を要するので、今後もIICSにおいて、技術的指導を受ける必要があろう。Dra. Marisel Maldonado も1年間の集団コースを修了し、1990年度から開始される分子生物学部門の有力な一員として活躍することが期待される。Dr. Edgar Modesto Villagra については受入れ時にその専門分野についてmolecular biology か monoclonal antibody かという自然科学的には奇妙な議論があったが、現在、遺伝子工学、免疫学について研修中であり、1990年7月からのIICSでの活躍が期待される。また、IICS側の強い希望により、蛋白化学の研修のため Dra. María Elena Zorrilla がこの9月から山形大学医学部第一生化学教室で研修を開始した。

以上のように研修員受入れはこれまでのところ順調に進んでいる。ただ、留意すべき点としては、最終的な研修員決定まであまり時間をかけては討論し得ないことが多かったために、ある

一定の部分に不満が鬱積しつつあるように見えることである。いわく「なぜmolecular biologyの研究者だけが日本へ研修を受けに行き、cellular immunologyの人は行けないのか…」云々である。勿論、これは誤解ではあるが、今後、十分時間をかけて候補者を決定する必要がある。

平成2年度 カウンターパート研修員受入計画

年度	氏名	研修科目	受入期間	受入機関
平成 2年	Dra. Elena S. Kasamatsu	病 理 学	平成2年8月20日～ 同年11月19日	国立がんセンター
	Dra. Marta Asucurra	遺 伝 学	平成2年1月1日～ 同年8月31日	熊本大学医学部寄生虫病 学教室
	Dra. Estela Picaguá	免 疫 学	平成2年8月1日～ 3年7月31日	山形大学医学部寄生虫学 教室、長崎大学熱帯医学 研究所寄生虫学教室

3-5 資機材供与及び利用・管理状況

1) 資機材供与実績

昭和63年度及び平成元年度供与機材内容（本邦購送分、現地調達分）については、附属資料④を参照願いたい。

2) 昭和63年度供与機材の利用・管理状況

1989年10月時点での供与機材の利用及び管理状況を下記する。

利用状況

- A：日常頻度が高い
- B：必要に応じて使用
- C：現在使用していない

管理状況

- A：常に使用可能な状態
- B：メンテナンスまたは調整が必要
- C：使用不能

INVENTORY LIST IICS--Chagas Project

No.	Item	Brand	Specification	利用状況	管理状況
A-1	Centrifuge	Hitachi	05PR-22	A	A
A-2	Vacuum Pump	Yamato	PS-06, 100V	A	A
A-3	Drying Sterilizer	Yamato	SG-62, 100V	A	A
A-4	Test-tube Mixer		HM-10, 100V	A	A
A-5	Magnetic Stirrer		B-2, 100V	A	A
A-6	Tube Pump	Millipore	XX8020000	A	A
A-7	Pressure Pump	Millipore		A	A
A-8	Prefilter (Housing)	Millipore		A	A
A-9	Reverse Osmosis	Millipore	ZZRFJ10008	A	A
A-10	Water Distiller	Millipore	ZD20100SP	A	A
A-11	Water Softener	Millipore	SAT156A	A	A
A-12	Tank	Millipore	50 lit., ZRJK50LT	A	A
A-13	Activated Carbon	Millipore		A	A
A-14	Stand	Millipore		A	A
A-15	Control Panel	Millipore		A	A
A-21	Autoclave	Hirayama		A	A
A-22	Water Bath Incubator	Ikemoto		A	A
A-23	CO2 Incubator	Sanyo	MIP-3158, 100V	A	A
A-24	Stand			A	A
A-25	CO2 Press Regulator	Sanyo		A	A
A-26	CO2 Cylinder		CO2-6000lit	A	A
A-27	Cart for Cylinder			A	A
A-28	Multi-channel Pipette	TiterTek	77-887-000	A	A
X-3	Personal Computer	Apple	Macintosh SE	A	A
X-4	Impact Printer	Apple		A	A
A-28	Freezer	Sanyo	MDF-190AT	A	A
A-29	Land Cruiser	Toyota	4WD	A	A
A-30	F3 Camera Body	Nikon		B	A
A-31	Speed Light			B	A
	Micro Lens			A	A
A-32	1) 55mm			B	A

INVENTORY LIST IICS - Chagas Project

No.	Item	Brand	Specification	利用状況	管理状況
A-33	2) 105mm			B	A
A-34	Enlarger	Lucky	90M-S	B	A
A-35	Color Foil Printer	Konica	B4C	C	A
A-36	Zoom Copy Stand	King		B	A
A-37	Camera Bag	King		A	A
X-38	Luft Aluminium Case	Hakuba		A	A
X-88	Personal Computer	IBM	PS60-071	A	A
X-89	External Disk Drive	IBM		A	A
X-90	Mouse	IBM		A	A
X-91	Coprocessor	IBM	80287	A	A
X-92	Printer	IBM	XL24	A	A
X-93	Sheet Eeder	IBM		A	A
X-94	Uninterrupt Power	A. P. C.		A	A
X-95	Copying Machine	Xerox		A	A
A-50	Liquid Scintillation Counte	Beckman	LS5000TA	B	A
A-51	High Speed Centrifuge	Tomy	RS-2011V	A	A
A-52	Sonifier-Cell Disruptor	Branson	2250	B	A
A-53	Stirrer for Homogenizer	Ikemoto	1080	C	A
A-54	Refrigerated Centrifuge	Kubota	KR-1500	B	A
A-55	PH Meter	Horiba	F-13	A	A
A-56	Low Speed Centrifuge	Tomy	LC06-SP	A	A
A-57	Ultrafiltration filter Holder	Amicon	8010	C	A
A-58	Ultrafiltration filter Holder	Amicon	8050	C	A
A-59	Ultrafiltration filter Holder	Amicon	8200	C	A
A-60	Column	Pharmacia		C	A
A-61	Auto. Cell Harvester	Lab. Science		B	A
A-62	Auto. Disinfectinb App.	Mielle	G7735U	-	C
A-63	Rotary Shaker	Ikemoto	40-0322	C	A
A-64	Electronic Balance	Sartorius	L2200S	A	A
A-65	Specytophotometer	Hitachi	U-2000	A	A
A-66	Medical Freezer	Sanyo	MDF-230	A	A



INVENTORY LIST IICS - Chagas Project

No.	Item	Brand	Specification	利用状況	管理状況
A-67	Auto. Ice Machine	Hoshizaki	F200AA-SA	A	A
A-68	Ultrasonic Pipet Washer	Yamato	B5200-J4	A	A
A-69	Ultrasonic Cleaner	Yamato	BT-25	B	A
A-70	Waterbath Incubator	Yamato	AW-31	C	A
A-71	Embedding console	Sakura	TEK 111	A	A
X-72	Freezing Microtome	Sakura	CM-501	A	A
X-73	Sliding Microtome	Sakura	IVS-400	A	A
X-74	Slide Warmer	Sakura	PS-SB	A	A
X-75	Paraffin Oven	Sakura	PM-401-1	A	A
X-76	Electric Incubator	Sakura	IF-2B	A	A
X-77	Multi-Viewing Microscope	Olympus	BHS-MDO-2	B	A
X-78	Ultra Low Temp. Freezer	Sanyo	MDF 291AT	A	A
X-79	Ultra Low Temp. Freezer	Sanyo	MDF 190AT	A	A
X-80	Photomicrograph Microscope	Olympus	AHB5-RFL-2	A	A
A-81	Clean Bench	Hitachi	PCV-1303, BNG	A	A
A-82	Reader	Bio-Rad		A	A
A-83	Ultra Violet Light			A	A
A-84	Microscope	Olympus		A	A
A-85	Microscope	Olympus		A	A

昭和63年度供与機材である自動洗浄機は、プロジェクトサイトでの機材検収後、同機材の稼働を試みたところ、現地技師の据付（配線）ミスが原因で排水ポンプ部を焼損してしまった。

現在、部品焼損原因について究明中で、原因が明らかになり次第、早期修理にとりかかることとしている。

その他供与機材は全て正常に稼働しており、本プロジェクトの円滑な進捗をもたらしている。

3) 平成2年度供与機材

平成2年度供与機材の選定及び仕様検討については、チームリーダーが中心となり、IICS側との協議のもとに最終案の決定を急いでいるところである。分子生物部門の協力開始とともない、この部門の機材の供与が中心となるものと予想される。

3-6 ローカルコスト負担事業

本プロジェクト開始後、下記の通り我が方ローカルコスト負担事業を実施してきている。

年度	費目	事業内容	概要	実施年月日	投入額
昭和 62年	応急対策費	水改善工事	超純水製造装置流入口に必要な水圧をコンスタントに供給するためのIICS内給水管工事	昭和63年3月	1,344,000円
昭和 63年	応急対策費	プロジェクト専用研究室設営工事	IICS新館2階のプロジェクト専用研究室設営のための内外装工事及び設備工事	昭和63年8月	3,800,000円
平成	プロジェクト整備(モデルインフラ整備)事業	IICS実験施設建設	遺伝子工学を基礎としたバイオテクノロジーや放射性同位元素を用いた特殊技術を導入するための基盤施設の建設	平成元年10月	27,834,000円
元年	応急対策費	IICS本館実験動物飼育室改良工事	既設の実験動物(猿)飼育室改善に係る排水管工事、防水工事内外装及び補強工事	平成元年10月	3,486,000円

#### 4. 暫定実施計画 (T S I) 及び詳細年次計画

平成元年度の年間活動計画が長期専門家及びパラグアイ側責任者より提案あり、検討した結果、R/D締結による暫定的な協力計画と矛盾なく妥当であると判断した。

また、現在に至るまでの協力分野の研究活動の進捗状況に基づき、今後の暫定実施計画 (T S I) を策定した。

#### 暫定実施計画 (T S I)

内 容	1988(1年次)	1989(2年次)	1990(3年次)	1991(4年次)	1992(5年次)
1. 活 動					
1) 組織培養システム及び単クローン抗体産生系の確立					
2) 寄生虫学・疫学的研究					
3) サルを用いた動物モデルの樹立					
4) 免疫学的研究					
5) 分子生物学的研究とその応用					
6) 臨床的病理学的研究					
7) その他感染症の研究					
2. 専門家派遣					
長 期					
1) リーダー					
2) 調整員					
3) 寄生虫学					
4) 免疫学					
短 期					
1) 免疫学	—	—	—		
2) 病理学		—			
3) 寄生虫学		—			
4) 疫 学					
5) 循環器					
6) その他	—水改善		—生化学		
3. 研修員受入れ					
1) 12ヶ月	生化学 (M. Samudio)	生化学 (M. Villagra)	分子生物学		
2) 12ヶ月	病理学 (V. Villa)	生化学 (M. Zorrilla)	免疫学		
3) 短 期		寄生虫学 (A. Arias)	病理学		
4) その他					
4. 調査団派遣		計画打合せ 8/2~8/14	巡 回	指 導	評 価

#### 4-1 暫定実施計画の概説

##### (1) 組織培養システム及び単クローン抗体産生系の確立

すでに予定通り協力が終了しているため、その保守・維持を行う。渡辺専門家が帰国する前に超純水製造装置責任者、CO<sub>2</sub>インキュベーター責任者、親株骨髄腫冷凍保持責任者等をC/Pと協議のうえ決定し、この点に関する技術移転を完全に終了していることを確認する必要がある。この協力部門は、本プロジェクトの生命線であるから以上の点を十分に留意しなければならない。1990年度においては、本部門が円滑に運営されていることを調査、確認することになる。

##### (2) 寄生虫学・疫学的研究

###### (2)-1 リーシュマニア症関連

流行地のサシチョウバエ及び外来患者から得たリーシュマニア原虫株の同定が必要となる。この目的のため1990年4月から半年間、三森龍之専門家（熊本大学）を派遣し、原虫分離と同定（Kinetoplast DNA断片パターン）にあたらせる予定である。この技術の一部は既にC/Pとして熊本大学で3ヶ月研修したDr. Margarita Samudioが修得している。来春からのパラグアイ側C/Pは未だ決定していないが、病原体の同定はすべての研究の基本である以上、重視する必要がある。

###### (2)-2 トリパノソーマ関連

###### (2)-2-1 ワクチン開発の研究

Dr. Jorge Rosnerが直接の担当者であり、ワクチンの材料として、*T. cruzi*の膜成分、鞭毛成分をターゲットにしたい旨の説明があった。この方向を支えるために①トリポマスチゴート型虫体の十分な供給、②アッセイ法の確立が当面の課題である。実験機器・試薬の供与、感染サルモデルの保有、各種技術の活用可能性ということを考えれば、このIICSでのプロジェクトの中ではプライメートを用いるワクチン研究に利点があると言えよう。

###### (2)-2-2 ヒトからの*T. cruzi*分離

*T. cruzi*の病型などを探る上で、株の分離・保存・他分離株との比較ということが必要である。しかし、病原体そのものの分離・同定についてはDr. Rosnerの担当かと考えられるが、責任と同定方法がやや薄弱で、現にサシガメを用いるセノディアグノーシス（体外診断）がDr. Rosnerのシャガス病診断システムに入っていない点に問題がある。この部分の責任者とフローの手順とを明確にする必要がある。

###### (2)-2-3 *T. cruzi*の細胞遺伝学的研究

伝播昆虫サシガメについては、この国の主伝播者*Tr. infestans*一種となっているが昆虫学的な検討、特に細胞遺伝学的な検討がなされていない。1989年9月にLic. Antonieta de Ariasを熊本大学で研修させ、染色体パターンの検出技術を開発することはこの点から有意義である。熊本大学では平井助手がこれを担当し、まず、*Rhodnius* sp.についての染色体カ

リオタイプの提示を試みる。次いでこの技術を他種にも応用しようとする計画である。1990年度に流行地におけるサンガメ採集とこれらの細胞遺伝学的研究がLic. Antonieta de Ariasを中心に実施されれば理想的である。

#### (2)-2-4 T. cruzi の characterization

Lic. Antonieta de Ariasの今後の研究方針は、①「株-病変」分布の研究、②特異株と慢性型との関連、の2点である。「昆虫-寄生虫」コンビネーションには特異な親和性・病原性が存在することは知られているので、この方向の研究はトリパノソーマの病型・伝播昆虫防圧の上から有意義であろう。この2点の研究のために当面導入すべき方法として①分子生物学的手法による原虫Trypanosoma cruzi株の同定、②細胞遺伝学的手法によるサンガメTriatoma infestans染色体の解明であろう。

#### (3) サルを用いた動物モデルの樹立及びそれを用いたワクチン実験の試み

サルを用いたワクチン実験は、ある意味では本プロジェクトの最終目標であり、最も重要な課題の一つであるが、その目標に到達するには相当な課程が必要である。

まず、マウスの系を用いて防御免疫が成立するか否かを検索する必要がある（文献検索を含めて）。しかるのちにその防御免疫の細胞性機構を明らかにし、その細胞性機構を誘導し得る抗原をin vivo, in vitroの系で探していくことになる。この際、その抗原が自己免疫を誘導しないことを確認しておくことは、将来ヒトへの応用を考える時、重要である。以上述べた基礎的実験を行った後に、あるいは行いながらCebus apellaの実験に移行していくのでなければ、fruitfullな結果は絶対に得られない。T. cruzi 感染Cebus apellaの免疫能を検討することは意味なしとしないが、渡辺専門家がTNFやIL-1の測定をやっているからサルでもどうかといったアプローチではワクチン開発の道は遠いと考えなければならない。現在、マリアワクチン開発で突きあたっている壁の厚さを知る必要がある。

以上、本協力部門の1990年度における実施計画は文献読みなども含めたプラン作りの基本から始めるべきであると考え。勿論、現在進行中のサルを用いた実験はこれを推進し、一定の結論を得なければならない。

#### (4) 免疫学的研究

1989年度に各専門家により、点火されたテーマの研究を更に深めていくことが課題である。1990年度中には何らかの形でこれまでの研究の成果を専門誌に投稿する方向にもっていくことで、C/Pを刺激し、科学することの喜びを知るチャンスを作ることでC/Pのautonomyの確立へと歩みを進めていかなければならないだろう。

重要なポイントとして1)マウスの系におけるT. cruzi に対する細胞障害性T細胞の存在を確認し、専門誌に投稿すること 2)Dra. Samudio、渡辺専門家及びDra. Rosa Zarate により樹立されたT. cruziに対する単クローン抗体の反応抗原の性格づけをすること 3)太田専門家とDra. Marta Ascurra が開始したシャガス病患者のHLAの問題をより開花させることなどが挙げら

れる。他のすべての課題も含めて帰国後も各専門家とC/Pが連絡をとりあうことにより、火が消されることのないようにしていくことが真の意味の協力になることを確認する必要がある。免疫部門の協力はこのプロジェクトで最初に導入されたわけで、その技術移転の成功の可否がモデルになると考えられる。

1990年度のこの部門のもう一つの大きな課題は、サルを用いたワクチン開発の協力部門といかに相互にintegrateし、collaborateしていくかにある。natural scienceがいかに集学的なものであるかを両部門の協力体制を作ることを通してC/Pに理解させる必要がある。(もっとも種々の要因からこれがそれ程容易なものであるとは決して考えないが)

#### (5) 分子生物学的研究とその応用

1990年度機材の到着時期との関連で、この部門の研究協力が実際に開始されるのは1990年度終盤にさしかかってからになると推定される。

実際の活動が開始される以前に、どのようなテーマについて行うかを各専門家とC/Pの間で十分な議論をすることを提案したい。これまでの免疫学部門などでは各専門家が設定したテーマをC/Pがfollowするというケースが多かったように思うが、分子生物学部門については十分に時間的な余裕もあり、JICA、IICSの議論を通じてテーマを最終的に決定していく方向を探ってみてはどうか。幸いなことに、この部門の中心の一人になると推定されるDr. Figueredoは米国で4年間の経験があり、以上のproposalを十分可能にする基盤がIICS側にあるとみる。

現時点で考えられるテーマとしては、単クローン抗体により純化したT. cruzi 抗原の遺伝子クローニング、さらには大量のrecombinant antigenの作製などが考えられる。また、多田団員の報告書にproposalとして示されているT. cruzi 株の同定なども本協力部門とのintegrationのもとに進められるであろう。

#### (6) 臨床的病理学的研究

病理部門主任Dra. Kasamatsuと十分に協議する時間が持たず、臨床病理学的研究の年次計画の詳細を決定するに至っていないが、基本的にはCebus apellaのシャガス病病変の免疫組織病理学的研究が中心になると考えられる。パラグアイ国においてほとんど剖検が行われていないのが現状であり、ヒトのシャガス病の病理組織学的研究はおのずと制約がある。しかし、臨床病理学はヒトの疾患診断の基本となるものであるから、本プロジェクトの目的から大きくかけ離れたものでなければ、種々の面からの協力をしていくことは、同国民の健康維持という大目的にかなうものであり、IICS側と具体的なプロジェクトについて協議する必要がある。

臨床的研究は新所長のDr. Morenoが、アスンシオン大学医学部内科学教授であることもあり、新局面を迎えたといえよう。まずシャガス病患者の病像を全体的に把握するために医学部とも十分な協力体制を作り上げる必要があろう。具体的には、医学部教授も含めたシャガス病患者の実態把握のためのCommitteeを設立し、その中で問題を討議したらいかであろうか。勿論、

ラシメット研究所との協力体制も大事である。そのCommittee のなかで 1)シャガス病患者の  
 確実な診断の基準の設定 2)検査項目の決定 3)コンピューターへのデータの貯蓄 4)患者の  
 follow-up 体制の確立など種々の問題を討議すべきではないか。所長のDr. MorenoがCommittee  
 のChairmanという案はいかがか。

いずれにしても本プロジェクトは研究協力プロジェクトとしてスタートしたわけだが、その  
 大目的からしても、今後、シャガス病を中心とする感染症の臨床にも眼を向けていくべきであ  
 る。

#### 4-2 詳細年次計画

よって、以下にて平成元年度の年間活動計画及び今後の暫定実施計画(TSI)を解説するこ  
 ととする。

平成元年度の年間活動計画

項 目	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
1. 培養系の確立と単クローン抗体の作製 1) 単クローン抗体産生株の樹立 2) 単クローン抗体認識抗原の精製	←→									←→		
2. 寄生虫学的・疫学的研究 1) 患者および媒介昆虫からTc株の分離 2) トリボ型虫体の増殖 3) メクサイクロック虫体の増殖 4) TcキネトプラストDNA分析 5) サンガメ染色体分析	←→				←→					←→		
3. 雑・シャガス病モデルの開発とワクチン実験 1) 正常サル免疫応答能の検討 2) Tcワクチン効果の予備実験		←→						←→				
4. 免疫学的研究 1) 各種自己抗体の検出 2) 各種リンフォカイン活性の測定 3) Tcに対する細胞障害試験 4) Tc表面蛋白の同定 5) シャガス病患者細胞性免疫機能の検討	←→		←→	←→	←→			←→			←→	
5. 分子生物学的研究 1) 分子生物学セミナー		←→			←→		←→		←→			
6. 病理・臨床的研究 1) 病理組織標本作製法 2) 免疫組織化学標本作製法 3) Tc感染マウス病理組織検査					←→	←→				←→		
7. その他感染症の研究 1) リーシュマニア症伝播疫学調査		←→	←→	←→				←→		←→	←→	

## 5. 実施運営上の問題点

### (1) シャガス病、リーシュマニア症診断システム上の問題

Dr. Rosnerが診断システムを示したが、他の部門（免疫など）との関係が機能していない。また、寄生虫学的検査法の不全がある。患者の受け入れから検査（血液塗抹、培養、体外診断 Xenodiagnosis）、血清採取など一貫したルチンの手順で処理し、誰でもその標本のバックグラウンドを知り得るような形にすべきである。背景不明の血液について云々することは無意味である。血液標本のコーディングと保存の必要性も指摘される。

### (2) *T. curzi* のトリポマスチゴート型採集

この作業は他の部門と異なり生産そのものが目的であり、一度ルチンとして確立すれば研究として興味をひくものではない。しかし、今後のワクチン生産や免疫学的研究のため大量の虫体が要求される。

### (3) LACIMETとの研究協調

ラシメットとの共同研究は本プロジェクト発足当時からの懸案事項であった。これまでは機材の共同利用（主に I I C S 側からラシメットへの借用）のみであったが、橋口専門家の参加によりリーシュマニア症伝播疫学調査の共同研究を計画中である。ラシメット所長である Dr. アビラ（元 I I C S 病理研究室部長）の意向ではリーシュマニア症はラシメットを中心に研究を展開させたい考えがあり、本プロジェクトもフィールド調査のみでなく、実験室研究のレベルでも技術指導、共同研究を実施する態勢であるが、当面はリーシュマニア症にのみ限局する。

### (4) 運営会議のあり方

日本人専門家の間、あるいはパラグアイ側 C/P と専門家の間における意思の疎通が現状では不十分である。研究プロジェクト内の水平・垂直の連絡がよくない状態で効率的なプロジェクト運営はできない。毎週月曜日のミーティングは単に研究成果などを報告させるのみでなく、これに伴う C/P 及び専門家側双方からの問題点の提起、それを解決する方法についての討論にまで及ぶべきである。更に研究計画の提案についても各部門担当 C/P やチームリーダー、専門家が十分耳を傾けるべきである。この点、専門家と C/P いずれの側からも強い要望があった。

### (5) パラグアイ側カウンターパート配置上の問題点

Dr. Esteban Ferro については調整会議の席上で免疫部門 3 人の責任者の一人とされたが、本人はこの部門に向いているかどうかについて疑問を提唱する。本人は有機化学の出身でスペインでは専ら植物成分の生物活性についての研究に従事し、その分野の研究は既に出版されている。（第一著者としての研究論文は無いが、Rev. Latinoam. Quim 17/1-2, 51-53(1986), Phytochem. 27, 1540-41, (1988), Fitoterapia, LVIII(1987)他）Dr. Ferro とのインタビュー



でも、殺トリパノソーマ成分あるいは免疫活性を増強する植物成分の研究をしたいと述べている。ドイツGTZプロジェクトのテーマとの関連があるが、この意思を尊重してJICAプロジェクトとしてはサポートするが、少なくとも免疫の担当は止めさせるのが妥当ではないだろうか。

C/Pは女性が多く、そのための家庭の事情、あるいは一般的にパートタイム勤務、第二、第三ビジネスの必要性などがからんでフルタイムの仕事ができにくい。あるいは長期間の日本での研修が難しいという特徴が見られる。第一の問題点については、Dr. Morenoのフルタイム研究員を増やすといった改善を含め、パラグアイ側の自主解決を促す態度をとるべきであろう。日本側からのスケジュール押しつけだけでは、結局自主的に機能しにくい。第二の点についてはラテン・アメリカ域内第三国研修という方法で短期のコース参加による集中研修を奨励するのが適しているかも知れない。日本で短期間に集中的に教育をすることは、日本側受入機関にとって大きな負担であり、コースを組み立てることも難しい。したがって、どうしても短期は難しいとなるであろうからである。

#### (6) IICSの勤務体制の問題点

この問題は、実際の研究協力が開始される以前から重大な問題として提起されていたが（昭和63年8月分仙道報告書参照）、実際に仕事が始まってみると、何らかの改善を加えないと、生細胞を取り扱う一定の実験では致命的であることが判明しつつあり、IICS側の自助努力には任せておけない状況にある。所長のフルタイマーを増員するという言葉に期待しつつも、現在の勤務体制が根本的には変化しないという予想のもとに、JICAとIICSで話し合っただけで何らかの解決策を考える必要がある。この間、仕事は進んできたが、それは各専門家がC/Pの仕事のカバーしてきたからであり、事実、専門家の補助なしに仕事を開始したDr. Cabralあたりは、時間内に仕事が終了しないことに不満を漏らし始めている。また、前述した渡辺専門家の「C/Pだけでは単クローン抗体は作れない」という言葉に、現場で経験した者の実感がある。

最良の解決案がすぐ生まれてくるとは考えられないが、たたき台として私案を示す。1) 研究内容により、1人型実験と2人型実験に大別する。1人型実験とはハーフタイマー、フルタイマーいずれでも基本的には単数の研究者で継続できる実験で、病理形態学などはその展型と言えよう。2人型実験とは基本的に2人で行う実験で理想的にはフルタイマーと午後からのハーフタイマーの組合せで構成されるが、種々の変形はあり得る。免疫学での細胞障害T細胞の検出法などは展型的な2人型実験と言えよう。2) 2人型実験を行う組合せは固定化する必要はないが、同一タイプのほぼ同じレベルの技術を持ち合わせている2人とする。3) 1日に行われる実験を2分して2人でやることになるが、仕事のtransferを円滑にするために、担当者が変わる時の少なくとも一時間は一緒に実験をする。このようなことですべてが解決するとは毛頭考えないが、パラグアイに自然科学を根付かせるためには、以上に相当するような工夫が是非必

要である。いずれにしても、プロジェクトの中にJICA、IICS両者からなる「実験を能率的にするための委員会」を作り、検討してみてもどうか。

(7) カウンターパートの活性化について

IICSに限らずパラグアイ国には競争が無いとの話が出たが、C/Pのやる気を起こさせるための手段をいくつか講じる必要がある。そのために下記のようなことを進めてはどうだろうか。

ア. 学会・雑誌などで研究成果発表の機会を作る

国内・ラテンアメリカ諸国内での学会開催情報を広告し（例えば1989年11月カラカスでのFLAP会議）、C/Pに演題を出させ、学会出席の機会を与えるなどの手段をとる。ラテンアメリカ各国の研究者と巡り合いは競争心を掻き立てるであろう。IICS又は医学部のプレチンに成果を発表させることにより、研究の完成に伴う充足感を味わってもらおう。ラテンアメリカ人が伝統的に記録好きであることを考えると有効であろう。

イ. 研修コースの設置

ラボの研究は単にガラス器の中の現象ではなく、それが事実の問題の解決につながっていることを知ってもらうための現地見学コースの設置は有意義かもしれない。例えば「リーシュマニア症コース」は流行地でサシチョウバエの採取、地方病院での患者の見学、診断、治療の実際など、一つの疾病全体像をラボの研究者に体験してもらおう。このことはC/P各人の仕事と全体と関連を見出す上で重要であろう。なお、コースなどの修了時には立派な修了証書を参加者に出すのがラテンアメリカの慣しであり、その意義も大きい。IICS内での研究成果、経験が増すにつれて、外部の研究者、学生、医師を対象とするコースも考慮すべきであろう。コースの教官としての役割は彼らを満足させるであろう。

## 6. 調査団所見

### 6-1 結論と提言

(多田功団員)

今回の調査団に参加して、本プロジェクトは開始1年余りの時点ではあるが、研究成果、専門家派遣、研修員受入れ、機材供与のすべての点で順調に進捗していると思うと同時に、仙道国内委員長、川端リーダーの強い指導力によるものと考えられる。他方、人間関係が部分的にギクシヤクしている面は見逃せない。開発途上国に対する技術協力は、当方が一方的に設定した目標や、それに至る課程を押しつけると、暗礁に乗り上げることが多い。異なった文化・言語体系やレトリックを越えて協力を確立することの難しさを痛感する点である。このプロジェクトを日本側協力が去った後も根付かせるということを考える上では、常にこの点を考慮しつつ対話の中に道を見出して行くことが最も大切であると思う。

### 6-2 総括

(仙道富士郎団長)

今回の調査の結果、本プロジェクトは全体的に所期の計画に沿った線で進行していることが明らかとなった。その成果は、今回行われた研究発表会の抄録集(附属資料③)にも見ることができる。クーデターにともなうIICS所長の交代(Dr. Chiora → Dr. Moreno)も医学部への風通しが良くなり、また、新学長とDr. Morenoは太いパイプを持っているようでプロジェクトはやりやすくなった。しかし、当然のことながら実施にともなって種々の矛盾点も生じてくるであろうが、その矛盾を克服していく道を見出すことが本プロジェクトを成功に導く鍵の一つであると考えられる。今後とも、本件国内委員長として、プロジェクトを成功裡に終らせることができるよう可能な限り努力してゆきたい。

## 7. 合同委員会の協議結果

### 7-1 ミニッツ署名に至る経緯

本調査団派遣に先立ち、合同委員会の協議結果としてミニッツに盛り込むべき内容等について、川端リーダーが同席しての5月19日の国内委員会や調査団員による派遣前団内打合せ等を通じ十分な検討がなされた。

本合同委員会は、平成元年8月10日午前10時より、国立アスンシオン大学保健科学研究所において友好裡に行われ、同日我が方仙道富士郎団長、先方Dr. Luis Berganza同大学長及びDr. Ricardo Moreno Azorero保健科学研究所長との間で、ほぼ上記我が方案の通りでミニッツに署名を了した。

(ミニッツの概要については第2章要約を参照)

なお、本合同委員会の席で、川端チームリーダー及びDr. Ricardo Moreno Azorero 所長により、本プロジェクトの進捗状況及び今後の活動計画等につき説明がなされた。



## 附 属 資 料

- ① 協議議事録（ミニッツ）
- ② アスンシオン大学保健科学研究所（IICS）の組織図
- ③ 1989. 8. 8. IICSシャガス病等寄生虫症研究プロジェクト研究報告会抄録
- ④ 昭和63年度、平成元年度供与機材リスト



① 協議議事録（ミニッツ）





THE MINUTES OF DISCUSSIONS  
BETWEEN THE JAPANESE PLANNING AND CONSULTATION SURVEY TEAM  
AND  
THE AUTHORITIES CONCERNED OF THE GOVERNMENT OF  
THE REPUBLIC OF PARAGUAY  
ON  
THE JAPANESE TECHNICAL COOPERATION  
FOR THE RESEARCH PROJECT ON CHAGAS' DISEASE  
AND OTHER PARASITIC DISEASES

The Japanese Planning and Consultation Survey Team (hereinafter referred to as "the Team") organized by the Japan International Cooperation Agency (hereinafter referred to as "JICA") and headed by Prof. Dr. FUJIRO SENDO visited the Republic of Paraguay from August 2 to August 14, 1989 for the purpose of reviewing and evaluating the activities concerning the Research Project on Chagas' Disease and other Parasitic Diseases (hereinafter referred to as "the Project"), and modifying the implementation plan for the Project.

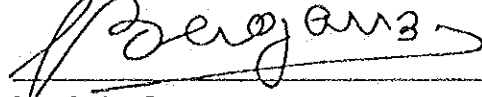
During its stay in the Republic of Paraguay, the Team observed the overall progress, exchanged views and had a series of discussions with the Paraguayan authorities concerned in respect of the successful implementation and measures to be taken by both sides for the Project.

As a result of the discussions, both sides agreed upon the matters referred to in the document attached hereto.

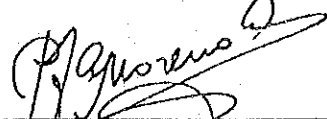
仙道富士郎

Prof. Dr. Fujiro Sendo  
Leader,  
Planning and Consultation  
Survey Team,  
Japan International  
Cooperation Agency,  
Japan

Asuncion, August 10th, 1989



Dr. Luis Berganza  
Rector,  
National University of Asuncion,  
The Republic of Paraguay



Dr. Ricardo Moreno Azorero  
Director,  
The Institute of Research for  
Health Sciences,  
The Republic of Paraguay

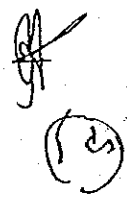
ATTACHED DOCUMENT

I. GENERAL REVIEW

This project started on March 4, 1988, for the purpose of establishing research activities upon Chagas' disease and other parasitic diseases, and thus contributing to the promotion of public health in the Republic of Paraguay as a five-year project. In order to achieve the purpose set above, Japanese technical cooperation was initiated in the fields of 1) Parasitology, 2) Pathology, 3) Immunology, and 4) Others mutually agreed upon as necessary. The Project was expected to be implemented in accordance with the Master Plan attached in the Record of Discussion and the Tentative Schedule of Implementation signed on March 4th, 1988.

Regarding to the project activity in the Japanese Fiscal Year (starting from April 1st, to March 31st, of the next year) 1988 (FY 1988) and the first half of FY 1989, JICA has dispatched 3 long-term experts and 11 short-term experts, and has accepted 3 Paraguayan counterpart personnel for technical training in Japan. And JICA has preceded to provide and will provide the machinery and equipment necessary for the Project. On the other hand, the Paraguayan side has provided the facilities necessary for the Project and has secured the budgetary allocation and Paraguayan counterpart personnel required for smooth implementation of the Project.

In order to develop effectively and successfully the research activities of the Project, both sides studied and analyzed the present research condition of the Project. Based on the analysis both sides agreed to take special efforts for more effective and fruitful implementation of the Project.



## II. ACHIEVEMENT OF TENTATIVE SCHEDULE OF IMPLEMENTATION

The technical cooperation activities under the Project in FY 1988 and the first half of FY 1989 have been carried out as follows:

### 1. Dispatch of Japanese experts to the Project

#### a. Long-term experts (field, name, term)

- 1) Team Leader Dr. Masato Kawabata  
1988, 4/12 - 1990, 4/11
- 2) Coordinator Ms. Masayo Kondo  
1988, 5/24 - 1990, 5/23
- 3) Parasitology Dr. Tadashi Watanabe  
1988, 10/21 - 1990, 3/20

#### b. Short-term experts (field, name, term)

- 1) Water Quality Improvement Dr. Heihachiro Ishihara  
1988, 4/11 - 1988, 4/25
- 2) Immunology Dr. Takao Yamashita  
1988, 4/12 - 1988, 6/19
- 3) Immunology Dr. Shigemasa Sawada  
1988, 8/12 - 1988, 8/23
- 4) Immunology Dr. Fujiro Sendo  
1988, 8/12 - 1988, 9/11
- 5) Parasitology Dr. Nobuo Ota  
1989, 1/20 - 1989, 3/19
- 6) Immunology Dr. Sadahiko Nozaki  
1989, 3/10 - 1989, 3/22
- 7) Pathology Dr. Kinya Kawano  
1989, 3/10 - 1989, 3/22
- 8) Parasitology Dr. Yoshihisa Hashiguchi  
1989, 5/19 - 1989, 9/18
- 9) Immunology Dr. Susumu Nishinarita  
1989, 6/ 1 - 1989, 8/31
- 10) Immunology Dr. Mitsuhiro Numata  
1989, 6/ 1 - 1989, 8/31
- 11) Pathology Dr. Hitoshi Suzuki  
1989, 8/ 2 - 1989, 9/ 1

### 2. Training of Paraguayan counterpart personnel in Japan

(field, name, term)

- 1) Pathology Anatomy Dr. Victor Villa Diaz  
1988, 7/24 - 1989, 8/ 5
- 2) Parasitology Dra. Margarita Samudio Acevedo  
1988, 7/24 - 1989, 8/ 2
- 3) Molecular Biology Dr. Edgar Modesto Villagra Vera  
1989, 6/20 - 1990, 6/20

### 3. Provision of Machinery and Equipment

Machinery, equipment and other materials (hereinafter referred to as "the Equipment") necessary have been provided in FY 1988.

List of main Equipment provided by JICA up to date:

- 1) High Speed Refrigerated Centrifuge .
- 2) Electronic Balance
- 3) Double Beam Spectrophotometer
- 4) Sonifier Ultrasonic Cell Disruptor
- 5) Stirrer for Homogenizer
- 6) Microprocessor - Controlled Micro Refrigerated Centrifuge
- 7) pH Meter
- 8) Electrophoresis Apparatus
- 9) Blotting Apparatus
- 10) Medical Freezer
- 11) Low Speed Centrifuge
- 12) Ultrafiltration Filter Holder
- 13) Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay System
- 14) Automatic Ice Machine
- 15) Ultrasonic Pipet Washer
- 16) Ultrasonic Cleaner
- 17) Water Bath Incubator
- 18) Dissecting Instrument Set
- 19) Articles of Consumption for Electrophoresis Apparatus
- 20) Column
- 21) Liquid Scintillation
- 22) Automatic Cell Harvester
- 23) Automatic Tissue Processor
- 24) Embedding Console System
- 25) Freezing Microtome
- 26) Sliding Microtome
- 27) Slide Warmer
- 28) Paraffin Oven
- 29) Electric Incubator
- 30) Multi - Viewing Microscope
- 31) Slide Glass
- 32) Cover Glass
- 33) Specimen Box
- 34) Slide Label
- 35) OCT Compound
- 36) Uni - Cassette
- 37) Culture Dish
- 38) Microtome Adapter
- 39) Filing Cabinet
- 40) Staining Jar
- 41) Slide Glass Rack for Staining Jar

- 42) Specimen Holding Case
- 43) Petri Dish
- 44) Dissecting Knife Blade Handle
- 45) Trimming Knife Blade Handle
- 46) Dissecting Scissors
- 47) Dissecting Scalpel Blade Handle
- 48) Ultra - Low Temperature Freezer
- 49) Research Photomicrographic Microscope
- 50) Automatic Cleaning and Disinfecting Appliance
- 51) Rotary Shaker
- 52) Mouse Cage
- 53) Clean Bench
- 54) Land Cruser
- 55) Personal Computer

*PR*

*PR* (25)

### III. ACHIEVEMENT OF THE TECHNICAL COOPERATION IN EACH FIELD

According to the Tentative Schedule of Implementation (TSI), we achieved and acquired the following results:

1. Establishment of tissue culture system
2. Production of monoclonal antibodies to Trypanosoma cruzi
3. Preliminary study in search for new animal models

Besides the TSI, we have done the following additional research programs:

4. Immunogenetical study on the Chagas' disease patients
5. Preliminary study on immunological functions of the Chagas' disease patients




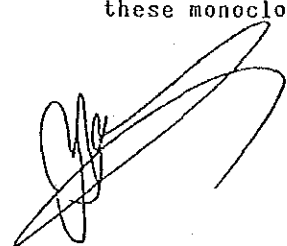
Followings are the details of achievement and investigations performed:

1. Establishment of tissue culture system

Owing to the delay of the new laboratory construction and the supply of equipment such as clean bench, we had to utilize the laboratory for tissue culture in the second floor of the IICS main building. For obtaining the highly qualified distilled water, Milli-Q and Milli-RO systems were set. For a few months, the problems in the supply of electricity were happening one after another, but at present, the systems are working sufficiently to supply necessary highly qualified water for the tissue culture.

2. Production of monoclonal antibodies to Trypanosoma cruzi

Monoclonal antibodies to T. cruzi were produced for the final goal of diagnosis of Chagas' disease patients and establishment of T. cruzi vaccine. Six monoclonal antibodies were obtained by the hybridoma technique from the mouse spleen cells infected with T. cruzi. Immunological reactivity of the obtained monoclonal antibodies were examined with Western blotting. Two clones (IgG2b) recognized the relatively low molecular weight epimastigote antigens of Y-strain T. cruzi. Six clones (IgM) reacted with the antigens of various molecular weights. The species, strain and stage specificity of these monoclonal antibodies are under investigation.



### 3. Preliminary study in search for new animal models




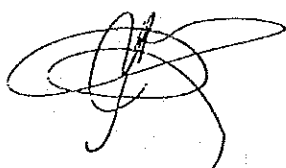
As a first step to establish a new animal model of Chagas' disease in Cebus apella, an immunological characterization of this monkey was performed. On the basis of the previous findings in IICS that lymphocytes of Cebus apella show E-rosette formation, further characterization of this phenomenon was carried out. E-rosette formation by lymphocytes of this monkey was completely inhibited by anti-human CD2 monoclonal antibody even in dilutions which did not inhibit E-rosette formation by human lymphocytes. This result clearly indicated that lymphocytes of Cebus apella utilize the molecule reactive with anti-human CD2 and the binding of lymphocytes from this monkey with sheep red blood cells is lower than that of human lymphocytes.

### 4. Immunogenetical study on the Chagas' disease patients

It is well known that susceptibility and/or resistance to certain infectious diseases including Schistosomiasis japonica correlated with the HLA phenotype. As a tool to search for pathogenesis of Chagas' disease, we examined the HLA phenotypes of Chagas' disease patients of cardiomegaly type and megacolon/mega esophagus type. When the phenotypes of HLA Class I and Class II were compared each other between the patients of both types of Chagas' disease above mentioned, certain differences were observed between the two groups. Especially, HLA-Cw3 phenotype was expressed on cardiomegaly type patients in a significantly higher frequency, suggesting that the molecule encoded by HLA-Cw3 may be involved in pathogenesis of cardiomegaly type Chagas' disease.

### 5. Preliminary study on immunological functions of the Chagas' disease patients

It is known that T lymphocyte plays an important role in the prevention of infection or in pathogenesis in Chagas' disease. T cell blastogenesis to T. cruzi antigen was examined using lymphocytes from Chagas' disease patients as a step to observe T cell activity of the patients and attempt to establish the antigen specific T cell clones from the lymphocytes of the patients. The lymphocytes of some Chagas' disease patients proliferated in vitro in reacting with the epimastigote antigens, while the lymphocytes of none of the healthy volunteers did, indicating that T lymphocytes of the certain patients were sensitized with T. cruzi antigens. This result was obtained under microscopical observation. Further studies will be required with the more sophisticated method.



#### IV. TENTATIVE SCHEDULE OF IMPLEMENTATION

As a result of studying and analyzing the present condition of the Project, both sides agreed to modify the Tentative Schedule of Implementation signed on March 4, 1988 as shown in Annex I.

The outline of the Tentative Schedule of Implementation is as follows:

##### 1. Japanese side

##### 1.1. Dispatch of Japanese experts to the Project (the latter half of FY 1989 and FY 1990)

###### a. Long-term experts

- 1) Team Leader
- 2) Coordinator
- 3) Immunology
- 4) Parasitology & entomology

###### b. Short-term experts

- 1) Pathology
- 2) Epidemiology
- 3) Maintenance of the equipment (under consideration)
- 4) Biochemistry
- 5) Epidemiology
- 6) Cardiology & gastroenterology
- 7) Others according to the mutual agreement if necessary

##### 1.2. Training of Paraguayan counterpart personnel in Japan (the latter half of FY 1989 and FY 1990)

- |                 |  |
|-----------------|--|
| 1) Biochemistry | Dra. Maria Elena Cristina Zorrilla G.<br>1989, 9/4 - 1990, 9/4 |
| 2) Entomology   | Dra. Gladys Antonieta Rojas de Arias<br>1989, 9/4 - 1989, 10/1 |
| 3) Immunology   |  |
| 4) Biochemistry |  |
| 5) Pathology    |  |

##### 1.3. Provision of the Equipment

Equipment necessary for the Project will be provided within the limit of the budgetary allocation of the Japanese side.



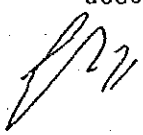
1.4. Provision of Special Measures

For fostering the smooth implementation of the Project, in accordance with the laws and regulations in force in Japan, the Government of Japan will take the necessary measures through JICA to supplement a portion of the local cost expenditures for construction work of the Laboratory/Project office.

2. Paraguayan side

2.1. Securing the budgetary allocation in accordance with implementation of the Project.

2.2. Appropriate provision of Paraguayan counterpart personnel in accordance with the implementation of the Project.



Tentative Schedule of Implementation

	>>>>>>>> Performed ***** Planned				
	FY 1988	FY1989	FY1990	FY1991	FY1992
1. Activities					
1) Establishment of in vitro culture system and production of monoclonal antibodies	>>>>>>>>	>>>>>>>>			
2) Parasitological and epidemiological studies		>>>>>	*****	*****	*****
3) Establishment of animal model & vaccine experiment Using monkey			*****	*****	*****
4) Immunological studies	>>>>>>>>	>>>>>>>>	*****	*****	*****
5) Molecular biological study and its application			*****	*****	*****
6) Studies on clinical and pathological aspects			*****	*****	*****
7) Studies on other infectious diseases		>>>>>>>>	*****	*****	*****

58



(12)

Tentative Schedule of Implementation

	FY 1988	FY1989	FY1990	FY1991	FY1992
3. Training in Japan					
1) 12 months	Biochemistry (M. Samudio)	Molecular Biology (E. Villagra)	Mol. Biology		
2) 12 months	Pathology (U. Villa)	Biochemistry (M. Zorrilla)	Immunology		
3) Short Term		Parasitology (R. Arias)	Pathology		
4) Other (Group Training)		Virology (P. Ros)			
		Microbiology (R. Figueredo)			
4. Survey Team		Planning 8/2-8/14	Advisory		Evaluation